



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA, BIOTECNOLOGÍA Y
MATERIALES

DISEÑO DE PROCESO DE EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE BIOACTIVIDADES DE
LOS ACEITES ESENCIALES DE *PARASTREPHIA LEPIDOPHYLLA*, *PARASTREPHIA*
LUCIDA Y *SENECIO NUTANS* PARA LA COMUNIDAD AYMARA DE TACORA

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERA CIVIL EN BIOTECNOLOGÍA

DOMINGA IGNACIA VICTORIA ESPINOSA GÓMEZ

PROFESORA GUÍA:
MARÍA ELENA LIENQUEO CONTRERAS

MIEMBROS DE LA COMISIÓN:
MARÍA ORIANA SALAZAR AGUIRRE
RENÉ CARMONA CERDA

Este trabajo ha sido financiado por la Subdirección de Pueblos Indígenas de la
Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la Universidad de Chile

SANTIAGO DE CHILE

2024

RESUMEN DE LA MEMORIA PARA
OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERA
CIVIL EN BIOTECNOLOGÍA
POR: DOMINGA IGNACIA VICTORIA ESPINOSA GÓMEZ
FECHA: 2024
PROF. GUÍA: MARÍA ELENA LIENQUEO

DISEÑO DE PROCESO DE EXTRACCIÓN Y EVALUACIÓN DE BIOACTIVIDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *PARASTREPHIA LEPIDOPHYLLA*, *PARASTREPHIA LUCIDA* Y *SENECIO NUTANS* PARA LA COMUNIDAD AYMARA DE TACORA

El pueblo Aymara, uno de los pueblos originarios de Chile, ha utilizado plantas nativas del altiplano con fines medicinales durante siglos. Esta memoria se centra en el diseño y evaluación de la prefactibilidad técnico-económica de un proceso de extracción de aceites esenciales (AEs) de tres plantas nativas del altiplano chileno: *Parastrephia lepidophylla* (Sitopola), *Parastrephia lucida* (Humatola) y *Senecio nutans* (Chachacoma), en colaboración con la comunidad Aymara de Tacora.

El estudio tuvo como objetivo general diseñar un proceso de extracción de AEs y evaluar sus propiedades antibacterianas y antioxidantes. Se realizaron extracciones de muestras recolectadas en Tacora durante el otoño de 2023 mediante destilación vapor-agua, evaluando sus propiedades bioactivas y diseñando un proceso de extracción para la comunidad.

Los AEs se analizaron para determinar rendimiento, actividad antibacteriana contra *E. coli* (método de difusión de disco), y actividad antioxidante (ensayo del radical DPPH). Los resultados mostraron rendimientos de 0,11 % para *P. lepidophylla*, 0,09 % para *P. lucida*, y 0,53 % para *S. nutans*. El AE de *S. nutans* tuvo la mayor eficacia antibacteriana, alcanzando un 90 % de inhibición comparado con ampicilina. El AE de *P. lepidophylla* mostró la mayor actividad antioxidante, con más del 40 % de inhibición, en contraste con estudios previos.

El proceso diseñado incluye cinco etapas: recolección y secado del material vegetal, extracción del AE por destilación vapor-agua, separación del AE del hidrolato, empaquetado y almacenamiento. Se planteó como caso base recolectar 6 toneladas anuales de material vegetal, produciendo 1400 frascos de 5 mL de AE, ajustándose a la biodisponibilidad de materia prima. La producción varía según el rendimiento de cada AE. El análisis económico determinó una inversión inicial de 7 millones de pesos y gastos operacionales anuales de 5 millones. Con un precio de venta de \$10.000, el proyecto recupera su inversión en 2 años, mostrando rentabilidad y viabilidad. El mayor costo es la energía, que usa 56 balones de gas de 45 kg, con opciones de reutilización de agua para minimizar el impacto.

Este estudio es un avance significativo en el diseño de procesos sostenibles con comunidades locales, combinando conocimientos tradicionales y tecnologías modernas para el beneficio mutuo y el cuidado ambiental. Los resultados abren oportunidades para futuras investigaciones y aplicaciones en biotecnología y desarrollo sostenible.

*A mi mamá,
y en memoria del papá.*

◇

*“Taquipuniw aka pachanx mayaki”
Todo en este mundo es una única realidad.*

Agradecimientos

A lo largo de este viaje académico, he tenido el privilegio de contar con el apoyo y la guía de muchas personas y entidades, sin las cuales este trabajo no habría sido posible. Quiero agradecer a la Subdirección de Pueblos Indígenas de la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la Universidad de Chile por su apoyo y recursos esenciales para llevar a cabo este proyecto. Su compromiso con la preservación y valorización de las culturas indígenas ha sido fundamental para el desarrollo de esta investigación.

Un agradecimiento muy especial a Lidia Villalobos, mujer Aymara que me recibió y guió durante el trabajo de campo. Muchas gracias por recibirme en tu hogar e interesarte en este proyecto, dejándome ser parte del mismo. A mi profesora guía, María Elena Lienqueo, por su infinita paciencia y comprensión y por darme palabras de aliento cuando lo necesité. Al profesor René Carmona, por recibirme en su facultad y por sus consejos y ayuda en el desarrollo de este trabajo. También a Diana, por su ayuda y apoyo en el trabajo de laboratorio. A mi primo Álvaro por sus consejos, correcciones y su guía.

Quiero agradecer a todos y todas quienes fueron parte de mi paso por la universidad y me acompañaron durante estos años. A mis amigas de la universidad y del colegio, por estar siempre presentes cuando las necesité. Un agradecimiento especial a la Cotty y la Paulita, porque sin su apoyo incondicional, nunca habría terminado esta memoria, y a Andrés por acompañarme durante los momentos más difíciles que he pasado. A mis hermanos, Simón, Pascual y Joaquín, gracias por creer siempre en mí, por protegerme y cuidarme. A mi hermana pequeña, Fer, por siempre hacerme sentir mejor y escucharme, aunque a veces no nos soportemos.

Finalmente, quiero agradecer de corazón a mis papás. Mi papá, quien fue el más orgulloso el día que entré a la universidad. Si estuviera aquí, estoy segura de que sería el más orgulloso el día que me gradúe. Me hubiera encantado ser su colega y le debo gran parte de quien soy como persona y profesional. Y a mi mamá, la persona que me llevó bandejas con comida cuando estaba muy estresada estudiando, que me llevaba en auto al metro para ahorrarme tiempo, que me levantaba en las mañanas de prueba para que no me quedara dormida. Ella me guió en mi elección de carrera, de especialidad e incluso en la elección de esta memoria, y sigue siendo mi consejera en decisiones grandes y pequeñas. Eres mi ejemplo a seguir y me inspiras a ser mejor cada día. Gracias por tu amor infinito.

A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento. Esta tesis es el resultado de un esfuerzo colectivo y de la colaboración de muchas personas que han aportado su tiempo, conocimientos y apoyo. Gracias por acompañarme en este viaje académico y personal.

Tabla de Contenido

1. Introducción	1
1.1. Contexto	1
1.2. Justificación	2
1.3. Objetivos y limitaciones	2
1.3.1. Objetivo general:	2
1.3.2. Objetivos específicos:	3
1.3.3. Limitaciones:	3
1.4. Estructura y metodología	3
2. Marco teórico	4
2.1. Pueblo Aymara y comunidad Aymara de Tacora	4
2.2. Especies en estudio y cultura Aymara	5
2.2.1. <i>Parastrephia lepidophylla</i> o Sipotola	5
2.2.2. <i>Parastrephia lucida</i> o Humatola	6
2.2.3. <i>Senecio Nutans</i> o Chachacoma	7
2.3. Aceites Esenciales	8
2.4. Proceso de producción de AEs	11
2.4.1. Preparación de la materia prima	11
2.4.2. Extracción por destilación	12
2.4.3. Tratamiento del AE	16
2.5. Evaluación de la bioactividad de AEs	16
2.5.1. Caracterización, análisis y control de los AEs	16
2.5.2. Propiedades biológicas de los AEs	17
2.5.3. Evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante	18
2.5.3.1. Actividad antibacteriana	18
2.5.3.2. Actividad antioxidante	21
2.6. Estudios previos a las especies de interés	24
2.6.1. <i>Parastrephia lepidophylla</i> o Sipotola	24
2.6.2. <i>Parastrephia lucida</i> o Humatola	24
2.6.3. <i>Senecio nutans</i> o Chachacoma	25
3. Materiales y Metodología	27
3.1. Investigación	27
3.2. Preparación del material vegetal (MV)	27
3.2.1. Recolección	28
3.2.2. Traslado y secado	28
3.3. Obtención del AE	28

3.3.1.	Extracción del AE	28
3.3.2.	Separación del AE	29
3.3.3.	Rendimiento	29
3.4.	Evaluación actividad antibacteriana	30
3.5.	Evaluación actividad antioxidante	30
4.	Resultados y Discusiones del Trabajo Experimental	32
4.1.	Rendimiento de la extracción del AE	32
4.2.	Actividad antibacteriana	34
4.3.	Actividad antioxidante	37
4.4.	Discusiones generales resultados experimentales	41
5.	Diseño del Proceso	42
5.1.	Caso base	42
5.1.1.	Resultados	42
5.1.2.	Discusiones	45
5.2.	Bases de diseño	46
5.2.1.	Bases de diseño	46
5.2.2.	Límites de batería	46
5.2.3.	Alcances de los servicios	47
5.3.	Descripción del proceso	48
5.3.1.	Diagrama de Flujos	48
5.3.2.	Preparación de la materia prima	49
5.3.3.	Extracción del AE	49
5.3.4.	Tratamiento del AE	49
5.3.5.	Discusiones	50
5.4.	Balances de masa	52
5.4.1.	Balance de masa por etapa	52
5.4.1.1.	Secado	52
5.4.1.2.	Extracción	52
5.4.1.3.	Separación	54
5.4.2.	Resumen balance de masa por lote	55
5.4.3.	Balance de masa anual	55
5.4.4.	Producción anual por especie	56
5.4.5.	Discusiones balance de masa	57
5.5.	Balance de energía	58
5.5.1.	Resultados	58
5.5.2.	Discusiones	59
5.6.	Dimensionamiento y selección de tecnología	61
5.6.1.	Resultados	61
5.6.2.	Discusiones	62
5.7.	Planificación de la planta	63
5.7.1.	Resultados	63
5.7.2.	Discusiones	64
5.8.	Análisis Económico	65
5.8.1.	Costo de inversión (CAPEX)	65
5.8.1.1.	Costo equipos y CAPEX total	65

5.8.1.2.	Costos directos	66
5.8.1.3.	Costos indirectos CAPEX	67
5.8.2.	Costos de operación (OPEX)	68
5.8.3.	Flujo de caja	69
5.8.4.	<i>Canvas</i> de modelo de negocios de 3 capas	71
5.8.4.1.	Capa Económica	72
5.8.4.2.	Capa Ambiental	73
5.8.4.3.	Capa Social	74
5.8.5.	Discusiones	75
6.	Conclusiones	77
	Bibliografía	80
	Anexos	88
A.	Aceites Esenciales	88
A.1.	Técnicas de análisis de AEs	88
A.2.	Propiedades Biológicas de los AEs	88
A.3.	Metodologías de extracción [23, 20, 21, 25, 28, 29, 32, 36, 35]	91
A.3.1.	Macerado	92
A.3.2.	<i>Enfleurage</i> o enflorado	92
A.3.3.	Prensado en frío	92
A.3.4.	Destilación	92
A.3.5.	Extracción por solventes	93
A.3.6.	Extracción con fluidos supercríticos	93
A.3.7.	Otras metodologías	94
B.	Resultados Experimentales	94
B.1.	Resultados Antibiograma	94
C.	Cálculos Diseño del Proceso	96
C.1.	Cálculos Balance de Masa	96
C.2.	Cálculos balance de energía	100
C.3.	Cálculos OPEX	103

Índice de Tablas

4.1.	Rendimientos del proceso de extracción de las 3 especies en estudio (expresado en [mL] de AE por [mg] de MV seco).	32
4.2.	Rendimientos porcentuales masa masa para las 3 especies en estudio.	33
4.3.	Diámetros de halo antibacteriano generados por <i>P. lepidophylla</i>	35
4.4.	Diámetros de halo antibacteriano generados por <i>S. nutans</i>	36
4.5.	Radios de halo antibacteriano generados por el antibiótico Ampicilina.	36
4.6.	Porcentaje de inhibición del radical DPPH• de las 3 especies en estudio.	38
4.7.	Valor IC50 para las 3 especies en estudio	39
4.8.	Capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) de las 3 especies en estudio	40
5.1.	Individuos totales (IT) y disponibles (ID) para recolección de las 3 especies de estudio.	43
5.2.	Masa total (MT) y de hojas (MH) disponible para recolección de las 3 especies de estudio.	44
5.3.	Masa a recolectar por hectárea para las 3 especies en estudio	44
5.4.	Caso base de recolección para las 3 especies en estudio	44
5.5.	Balance de masa de la operación de secado	52
5.6.	Balance de masa de la operación unitaria de extracción para <i>P. lepidophylla</i> .	53
5.7.	Balance de masa para la operación unitaria de extracción para las 3 especies en estudio	54
5.8.	Balance de masa de la operación unitaria de separación para <i>P. lepidophylla</i> .	54
5.9.	Balance de masa para la operación unitaria de separación para las 3 especies en estudio	55
5.10.	Resumen de balance de masa por flujo y especie para <i>P. lepidophylla</i> , donde MVS: Material vegetal seco, AE: aceite esencial, AP: agua de pozo	55
5.11.	Balance de masa anual para <i>P. lepidophylla</i>	56
5.12.	Producción anual de AE para las 3 especies de estudio.	56
5.13.	Producción anual de frascos de AE para las 3 especies de estudio.	56
5.14.	Valores utilizados para el balance de energía	58
5.15.	Volumen de las especies utilizadas en la destilación.	61
5.16.	Dimensiones del destilador	62
5.17.	Costos de equipos	65
5.18.	Costo total de los equipos y del CAPEX	66
5.19.	Costos Directos CAPEX	67
5.20.	Costos Indirectos CAPEX	68
5.21.	Costos OPEX	69
C.1.	Balance de masa de la operación unitaria de extracción para <i>P. lucida</i>	96
C.2.	Balance de masa de la operación unitaria de extracción para <i>S. nutans</i>	97
C.3.	Balance de masa de la operación unitaria de separación para <i>P. lucida</i>	97

C.4.	Balance de masa de la operación unitaria de separación para <i>S. nutans</i>	98
C.5.	Resumen de balance de masa por flujo y especie para <i>P. lucida</i> , donde MVS: Material vegetal seco, HL: hidrolato, AE: aceite esencial y AP: agua de pozo, .	98
C.6.	Resumen de balance de masa por flujo y especie para <i>S. nutans</i> , donde MVS: Material vegetal seco, HL: hidrolato, AE: aceite esencial y AP: agua de pozo, .	99
C.7.	Balance de masa anual para <i>P. lucida</i>	99
C.8.	Balance de masa anual para <i>S. nutans</i>	100
C.9.	Valores utilizados para el balance de energía.	102
C.10.	Resultados balance de energía para los cambios de estado y temperatura de las especies.	102

Índice de Figuras

2.1.	Mapa de la comuna General Lagos. Posición dentro de la región de Arica y Parinacota (a) y principales localidades y rutas de la comuna (b)[8].	5
2.2.	Arbusto <i>P. lepidophylla</i> (Sipotola) [17]	6
2.3.	Arbusto <i>P. lucida</i> (Humatola)[17].	7
2.4.	Arbusto <i>S. nutans</i> (Chachacoma) [9].	8
2.5.	AEs y tricomas glandulares en plantas aromáticas [27].	9
2.6.	Terpenos [30].	10
2.7.	Diagrama de fases para mezcla de dos líquidos inmiscibles [33].	13
2.8.	Embudo de decantación con AE e hidrolato [34].	13
2.9.	Ilustración del proceso de destilación [37].	15
2.10.	Metodología de difusión de disco en agar [44]	20
2.11.	Interacción entra radicales libres y antioxidante (Vitamina E) [46]	21
3.1.	Destilador AE30	29
4.1.	Antibiograma por triplicado de <i>P. lepidophylla</i> , con los diámetros de sus halos de inhibición de crecimiento bacteriano respectivos.	35
4.2.	Antibiograma por triplicado de <i>S. nutans</i> , con los diámetros de sus halos de inhibición de crecimiento bacteriano respectivos.	35
4.3.	Control positivo con Ampicilina (duplicado), con los diámetros de sus halos de inhibición de crecimiento bacteriano respectivos.	36
4.4.	Antibiograma de <i>P. lucida</i> , con su diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano respectivo	37
5.1.	Diagrama de flujos del proceso de extracción de AEs (MV: material vegetal) [Elaboración propia]	48
5.2.	Alambique de 200 [L] [104]	62
5.3.	Carta Gantt del proceso de extracción de AEs	63
5.4.	Flujo de caja cuando el precio de venta es de \$5.250	70
5.5.	Flujo de caja cuando el precio de venta es de \$10.000	70
5.6.	Representación gráfica de la coherencia horizontal y vertical del <i>canvas</i> de 3 capas	71
5.7.	Capa económica del <i>canvas</i> de 3 capas	72
5.8.	Capa ambiental del <i>canvas</i> de 3 capas	73
5.9.	Capa social del <i>canvas</i> de 3 capas	74
B.1.	Antibiograma de <i>P. lucida</i>	95
B.2.	Control positivo de ampicilina	95

Capítulo 1

Introducción

1.1. Contexto

El pueblo Aymara es uno de los diez pueblos originarios reconocidos por la Ley No 19.253 de 1993 en Chile. Está integrado por más de tres millones de personas distribuidas entre Perú, Bolivia y Chile, siendo el segundo pueblo con mayor población en nuestro país. En Chile, la comunidad Aymara se encuentra principalmente en la zona altiplánica de las regiones de Arica y Parinacota y Tarapacá [1].

En la realización de esta memoria se trabajó con miembros de la comunidad Aymara de Tacora, ubicada en la localidad del mismo nombre, en la comuna General Lagos, región de Arica y Parinacota. Esto se encuentra en el altiplano Chileno, a más de 4000 m.s.n.m. y cercano al punto donde se unen las fronteras entre Chile, Bolivia y Perú.

Las condiciones climáticas del altiplano han creado un ecosistema único, con una rica diversidad de fauna y flora endémica. Entre la flora se destacan diversas especies vegetales que históricamente han sido utilizadas por el pueblo Aymara por sus propiedades medicinales y para otros usos, como teñir lanas y como fuente de combustible.

En este trabajo se estudian tres plantas específicas, *Parastrephia lepidophylla* (Sipotola), *Parastrephia lucida* (Humatola) y *Senecio nutans* (Chachacoma). Estas plantas crecen de manera natural y abundante en el altiplano. Según el conocimiento tradicional de la comunidad, poseen diversas propiedades medicinales, incluyendo efectos analgésicos y antiinflamatorios. Tradicionalmente, la comunidad Aymara de Tacora emplea estas plantas en formas diversas, como infusiones, ungüentos para tratar heridas y quemaduras como incienso.

Estas tres especies son consideradas plantas aromáticas porque producen aceite esencial (AE). Los AEs son mezclas complejas de compuestos volátiles con diversas bioactividades, como analgésicas, antioxidantes y antimicrobianas. Esto explica sus efectos terapéuticos cuando se usan en infusiones, aromaterapia o ungüentos, métodos que permiten la liberación parcial de los AEs.

La presente memoria, nace como un proyecto de la Subdirección de Pueblos Indígenas de la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas (FCFM) de la Universidad de Chile. Esta es una continuación de trabajos anteriores donde se realizó un levantamiento de información

sobre las especies y un estudio de procesos artesanales de extracción de AEs.

1.2. Justificación

La producción y comercialización de AEs ha experimentado un crecimiento significativo debido al aumento de demanda de productos naturales y sostenibles en la industria de la salud, la belleza y el bienestar. Esta creciente demanda representa una oportunidad importante en el mercado, lo que motiva el interés en desarrollar procesos de producción eficientes y sostenibles para satisfacer esta necesidad creciente.

Debido a la variedad de propiedades que poseen, los AEs pueden ser utilizados en la elaboración de productos en diversas industrias, como la biotecnológica, agronómica y farmacéutica. Por lo tanto, el diseño de un proceso de producción eficiente y sostenible para la extracción de estos AEs es de gran utilidad.

El enfoque de esta investigación es diseñar el proceso específicamente para su aplicación en la comunidad Aymara de Tacora, en una escala piloto. Esto busca generar oportunidades económicas relevantes para sus miembros, al tiempo que se promueve el respeto y la preservación de su patrimonio cultural.

Asimismo, la implementación de este proceso permite estandarizar la producción, asegurando mayor homogeneidad entre las diferentes tandas de producción y facilitando la regulación y comercialización de los productos. Esto no solo mejora la eficiencia y la rentabilidad del negocio, sino que también garantiza la calidad y la consistencia de los productos del proceso, lo que contribuye a su aceptación en el mercado.

Finalmente, es importante destacar que las plantas seleccionadas para este estudio, como *P. lepidophylla* (Sipotola), *P. lucida* (Humatola) y *S. nutans* (Chachacoma), han sido poco estudiadas tanto en términos de sus procesos de extracción de AE como de sus propiedades biológicas. La escasez de información estadística y científica disponible sobre estos procesos enfatiza la necesidad de investigaciones como la presente. Este enfoque también resalta la importancia de valorar y aprovechar el conocimiento tradicional y local de la comunidad Aymara de Tacora en la optimización y desarrollo de métodos de extracción de AEs.

1.3. Objetivos y limitaciones

1.3.1. Objetivo general:

Diseñar un proceso de extracción de aceites esenciales (AEs) a partir de las plantas nativas *P. lepidophylla* (Sipotola), *P. lucida* (Humatola) y *S. nutans* (Chachacoma) provenientes de la región de Arica y Parinacota para la comunidad Aymara de Tacora, y evaluar las propiedades antibacterianas y antioxidantes de estos aceites.

1.3.2. Objetivos específicos:

1. Extraer AEs a partir de muestras vegetales de las especies *S. nutans* (Chachacoma), *P. lucida* (Humatola) y *P. lepidophylla* (Sipotola), recolectadas en conjunto con la comunidad Aymara en Tacora, región de Arica y Parinacota.
2. Evaluar las propiedades antibacterianas y antioxidantes de los AEs extraídos.
3. Diseñar un proceso de extracción de AEs para su implementación por parte de la comunidad Aymara de Tacora.
4. Analizar la factibilidad económica del proceso diseñado.

1.3.3. Limitaciones:

1. Esta investigación se centra únicamente en el estudio de tres plantas específicas del altiplano: *P. lepidophylla*(Sipotola), *P. lucida* (Humatola) y *S. nutans*(Chachacoma).
2. Se realiza una evaluación limitada de las propiedades de los AEs obtenidos, concentrándose principalmente en sus efectos antibacterianos y antioxidantes.
3. El diseño del proceso de extracción de AEs se adapta a las condiciones específicas de la comunidad Aymara de Tacora.
4. La evaluación del proceso diseñado se enfoca en la prefactibilidad técnica y económica del proceso, incluyendo análisis básicos del ámbito social y de sostenibilidad.

1.4. Estructura y metodología

Para lograr los objetivos descritos en la sección anterior, este trabajo se estructura en varios capítulos. Primero, se presenta un marco teórico exhaustivo que abarca conocimientos sobre el pueblo Aymara, las especies de estudio, los aceites esenciales (AEs), su proceso de producción y sus bioactividades. Luego, se detallan los materiales y metodologías utilizadas para realizar este proyecto, junto con los principales resultados y discusiones de los mismos. Finalmente, se presentan las conclusiones obtenidas.

Esta investigación se llevó a cabo mediante un enfoque combinado de estudio bibliográfico y trabajo de campo. La recolección de material vegetal se realizó durante una visita a la comunidad Aymara de Tacora. La extracción de los aceites esenciales se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile, utilizando el método de destilación vapor-agua. Las actividades antibacterianas y antioxidantes se evaluaron mediante la metodología de difusión de disco y el método del radical DPPH•. Estos experimentos fueron llevados a cabo en la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la misma universidad.

El diseño del proceso tuvo en cuenta las condiciones técnicas, tradiciones y cultura de la comunidad Aymara de Tacora, así como la biodisponibilidad de las plantas. Se planteó un caso base y se realizaron balances de masa y energía, dimensionando los equipos y seleccionando la tecnología adecuada. Finalmente, se llevó a cabo un análisis económico del proceso diseñado

Capítulo 2

Marco teórico

2.1. Pueblo Aymara y comunidad Aymara de Tacora

El pueblo Aymara es un pueblo ancestral, originario del altiplano de Perú, Bolivia y Chile, que se ha dedicado a la agricultura y el pastoreo. En Chile la población Aymara se distribuye principalmente en las regiones de Arica y Parinacota y Tarapacá. Históricamente, los pueblos indígenas en territorio Chileno tienen una estrecha relación con la naturaleza, la cual conforma parte de su cosmovisión. El pueblo Aymara no es la excepción, definiendo el concepto de *Akapacha* (mundo que nos rodea) a través de un vínculo entre el individuo, la sociedad y la naturaleza, siendo esta última sagrada. La buena relación entre estos 3 aspectos se cree vital para lograr el equilibrio. Así, la relación del hombre con el medio natural es respetuosa, con gratitud y un sentido de responsabilidad frente a la misma [2, 3, 4].

La comuna General Lagos, donde se encuentra el poblado de Tacora, posee una población de menos de mil personas, de los cuales aproximadamente un 75 % pertenece a un pueblo originario [5]. En la Figura 2.1 se puede ver un mapa de esta comuna, que está situada en el altiplano chileno. Esta zona tiene alturas cercanas a los 4000 m.s.n.m., lo que causa condiciones climáticas particulares, con temperaturas promedio de 0 °C en el mes más frío y de 10 a 18 °C en el más cálido. El 90 % de las precipitaciones se concentran en la estación de verano, hay una baja concentración de oxígeno en el aire y alta radiación solar. Las condiciones climáticas extremas que se presentan en esta región permiten el desarrollo de un ecosistema único, con bofedales, pajonales y llaretales que generan un paisaje característico de la zona. En consecuencia, cuenta con gran cantidad de especies de flora y fauna nativas de la región [6, 7, 8].

En de la flora de este ecosistema se encuentran las 3 plantas que se estudian en este trabajo, las cuales han sido utilizadas por el pueblo Aymara a lo largo del tiempo para diversas funciones, desde madera para fuego hasta usos medicinales. Dentro estos usos, son reconocidas por servir para emplastes (yesos para fracturas), ungüentos para heridas, o infusiones para dolores y afecciones (como resfríos, dolor de estómago o mal de altura) [9].

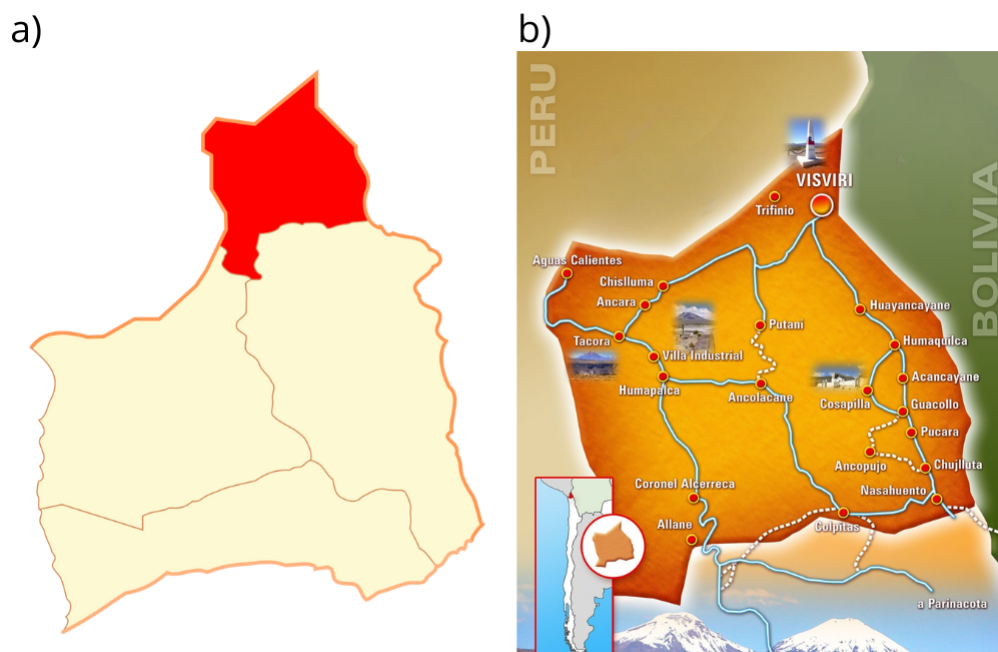


Figura 2.1: Mapa de la comuna General Lagos. Posición dentro de la región de Arica y Parinacota (a) y principales localidades y rutas de la comuna (b)[8].

2.2. Especies en estudio y cultura Aymara

En esta memoria se analizaron los AEs extraídos de 3 plantas, *P. lepidophylla* (Sipotola), *P. lucida* (Humatola) y *S. nutans* (Chachacoma). Las 3 especies crecen en el altiplano chileno y son nativas de este ecosistema, y son arbustos aromáticos.

Cabe mencionar que los nombres comunes de estas plantas derivan de la lengua Aymara, donde el nombre que se le asigna a una planta puede ser equivalente a más de una especie vegetal o también se les pueden dar distintos nombres a una misma especie según la etapa de desarrollo en que se encuentra. A partir de los nombres comunes y la información recogida desde la comunidad, y junto a una revisión bibliográfica se encontraron las clasificaciones taxonómicas de las especies con que se trabajó.

2.2.1. *Parastrephia lepidophylla* o Sipotola

Conocida comúnmente como Sipotola, es un arbusto aromático presente generalmente en tolares. Es altamente resinoso y mide entre 30 y 150 centímetros. En Chile se puede encontrar en las regiones de Arica y Parinacota y Tarapacá, en alturas desde los 3.500 a los 4.500 [msnm]. Otros nombres comunes para esta especie son Sipu, Siput'ula, Koa, Koa macho, Tola, Tola amarilla, Kulkut'ula, Tola amarga, Pulika, Kulkotea y Tolilla [10, 11, 12, 13, 14, 15, 16]

Tradicionalmente, se utiliza en conjunto con otras plantas para hacer infusiones que sirven contra el resfrío, la puna o mal de altura, o para adelgazar. También se usa medicinalmente para el dolor de muelas o cólicos. Otros de sus usos son para teñir lana, como madera para combustible y como condimento en ciertas comidas [10, 11, 12, 13, 14, 15].

En algunas fuentes bibliográficas, esta especie se utiliza como sinónimo de la especie *Parastrephia quadrangularis*. Sin embargo, en otras fuentes se hace la distinción entre ambas, principalmente debido a que *P. lepidophylla* (Sipotola) posee ramas más delgadas y crecen en distintos hábitats [13, 14, 15].

En la Figura 2.2 se muestra una imagen de esta planta.



Figura 2.2: Arbusto *P. lepidophylla* (Sipotola) [17]

2.2.2. *Parastrephia lucida* o Humatola

Conocida comúnmente como Humatola, esta especie es un arbusto resinoso que se encuentra generalmente en bofedales o zonas húmedas. De ahí su nombre común, que significa tola (leña) de agua. Otros de sus nombres son Umat'ula, Umalawa, Tola, Tolatola, Tola amarga, Koatola, Tola de agua, Leña de agua y Leña del cerro [11, 12, 13, 14, 15, 18, 19].

La Humatola mide entre 20 y 150 [cm], y se encuentra desde los 2.900 a los 5.000 [msnm] en las mismas regiones de Chile que las especies ya descritas. Dado su naturaleza resinosa, el pueblo Aymara suele usarla molida para tratar distintas afecciones, haciendo un emplasto (mezcla espesa y pegajosa) para fracturas de hueso, dado que este se solidifica generando una especie de yeso, como ungüento en quemaduras y heridas para tratar el dolor y la inflamación. Se toma como infusión para el pulmón y el dolor de muelas. Los principales usos no medicinales que se le dan son para teñir lanas, como leña, y como alimento mezclándola con harina [11, 12, 13, 14, 15, 18, 19].

En la Figura 2.3 se muestra una imagen de esta planta.



Figura 2.3: Arbusto *P. lucida* (Humatola)[17].

2.2.3. *Senecio Nutans* o Chachacoma

Conocida comúnmente como Chachacoma, es un arbusto que mide de 20 a 50 cm de altura, es densamente ramoso y fragante. En Chile se puede encontrar en las regiones de Arica y Parinacota y Tarapacá, en la zona altiplánica desde los 3.500 a los 4.800 [msnm]. Otros nombres que se le otorgan son Chachacoma del campo, Chachacoma del cerro, Tola, Tola hembra, Chachacoma blanca y Chachakuma [9, 10, 11, 12, 13, 14].

Esta planta es utilizada en la medicina tradicional Aymara para tratar el mal de altura o puna, que incluye síntomas como dolor de cabeza, mareo y náuseas, y también para el dolor de estómago en forma de infusión. Se consume como mate para tratar el resfrío común, la tos y la fiebre. Además, puede ser utilizada para hacer pomadas para ciertos dolores. Otros usos son como incienso, para teñir plantas, para condimentar comidas típicas andinas y como forraje para animales [10, 11, 12, 13, 14, 9].

En la Figura 2.4 se tiene una imagen de esta planta.



Figura 2.4: Arbusto *S. nutans* (Chachacoma) [9].

2.3. Aceites Esenciales

Los AEs son mezclas de compuestos volátiles producidos por algunas especies de plantas, conocidas como plantas aromáticas. Aunque todas las plantas tienen la capacidad de producir AEs, la mayoría de estas lo producen en cantidades insignificantes. Las plantas que los producen en mayor concentración son clasificadas como plantas aromáticas. Existen al menos 60 familias de especies en esta clasificación, y se han descrito cerca de 3.000 AEs distintos [20, 21]. Estos son resultado del metabolismo secundario de la planta, y se ha comprobado que pueden cumplir funciones de señalización y defensa [22, 23].

Cabe destacar que los AEs son distintos a los aceites vegetales o grasos. Tienen diferentes naturalezas químicas, ya que estos están formados principalmente por compuestos lipídicos [20, 22]. Según la norma ISO 9235:2021 un aceite esencial es el producto obtenido a partir de una materia prima natural de origen vegetal, mediante destilación por vapor o destilación en seco, después de la separación de la fase acuosa mediante procesos físicos (si la hubiera) [24].

Pueden encontrarse en diferentes partes de la planta, como las hojas, raíces, semillas o flores, entre otras, dependiendo de la especie de la que se obtengan [21]. Se almacenan en estructuras epidérmicas secretoras dentro de la planta, como glándulas, conductos o cavidades secretoras. En la mayoría de las plantas, se concentran en estructuras denominadas tricomas glandulares, como se observa en la Figura 2.5 [23, 25]. Estos tienen variadas formas, estruc-

turas y funciones, y acumulan metabolitos secundarios de la planta [20, 26]. Para extraer el AE de la planta, se deben romper estas estructuras, lo que puede realizarse de distintas formas, las cuales serán detalladas más adelante.

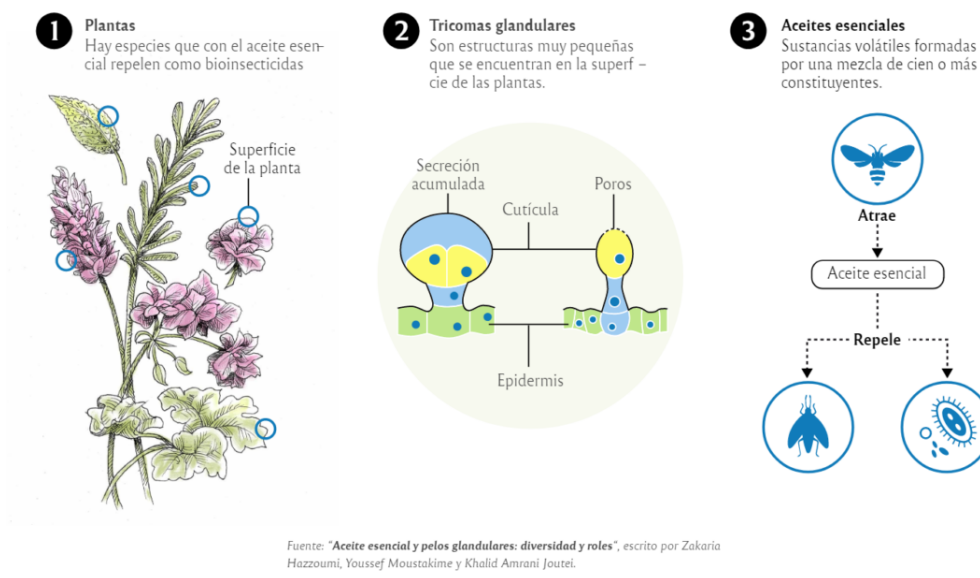


Figura 2.5: AEs y tricomas glandulares en plantas aromáticas [27].

Los AEs se caracterizan por ser hidrofóbicos, solubles en compuestos no polares o poco polares y poco solubles en agua [20, 28]. La mayoría de los AEs son líquidos a temperatura ambiente y poseen una densidad menor a la del agua, con pocas excepciones [25]. Los componentes de un AE pueden ser clasificados de distintas maneras, siendo dos de estas si son hidrocarburos terpénicos o no terpénicos, o si el compuesto es volátil o no volátil [22, 23].

En la primera clasificación, los terpenos son compuestos derivados del isopreno, una molécula formada por 5 átomos de carbono [29]. Existen muchas combinaciones de unidades de isopreno, siendo las más comunes en los AEs los monoterpenos y sesquiterpenos (que están formados por 2 y 3 unidades de isopreno, respectivamente). Los monoterpenos son el componente más abundante de muchos AEs, llegando en algunos casos a representar el 90 % del mismo [23, 29]. Terpenoides como diterpenos (20 carbonos) o más pesados, no suelen encontrarse en AEs [22]. En la Figura 2.6 se muestran los principales grupos de compuestos que componen a los AEs y ejemplos comunes de cada uno.

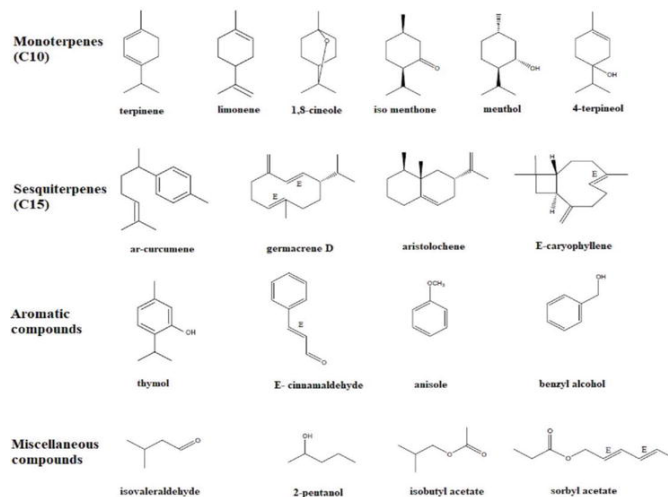


Figura 2.6: Terpenos [30].

Según la segunda clasificación, alrededor del 90 % del peso total del AE corresponde a la fracción volátil, que contiene compuestos terpénicos y sus derivados oxigenados, que pueden a su vez contener nitrógeno o azufre. Así pueden encontrarse en forma de alcoholes, ácidos, ésteres, aldehidos, aminas, entre otros. La fracción no volátil corresponde a un porcentaje menor al 10 % del peso total del AE y está compuesta por ácidos grasos, hidrocarburos, ceras, flavonoides, carotenoides y esteroides [22, 23].

Los organismos que producen AE pueden utilizarlo como protección de diversas formas contra insectos, patógenos, plagas o competidores. También ayuda a las plantas para atraer polinizadores, enviar señales a individuos cercanos o reduciendo la pérdida de agua [23]. Además de los usos que le da una planta, estos han sido utilizados ampliamente por los humanos.

Los AEs han sido utilizados desde tiempos ancestrales en distintas civilizaciones humanas como Mesopotamia y Egipto. Muchas culturas utilizan plantas medicinales en forma de infusión, macerados o incienso. Así, se aprovechan las distintas propiedades que los AEs le otorgan a la especie, aún cuando no se realiza la extracción del aceite puro [20]. También se utilizan desde hace siglos como fragancias o en perfumes [29].

Los AEs están generalmente formados por una cantidad limitada de compuestos (usualmente 2 o 3) que son los principales responsables de la bioactividad del mismo. Ahora bien, el resto de los componentes que posea, aunque se encuentren en menor cantidad, pueden interactuar entre sí para maximizar ciertas actividades biológicas del aceite [29].

Gracias al avance tecnológico actual, se han podido estudiar y desarrollar variados usos para los AEs. Debido a su compleja composición, surge el interés de investigar tanto los efectos que puede causar un AE puro (debido a las posibles interacciones entre sus componentes) como también aislar compuestos para estudiar aplicaciones posibles del mismo. Los AEs o sus componentes son utilizados para la elaboración de distintos productos como jabones o perfumes en la industria cosmética, saborizantes en la industria alimentaria, para aromaterapia en medicina alternativa, o insecticidas en la industria agrícola, entre otros [20, 28].

Además de los usos ya mencionados, en el último tiempo se han estudiado las aplicaciones de los AEs y/o componentes aislados de estos en la industria farmacológica. Se ha comprobado que estos pueden poseer, en mayor o menor grado, actividad analgésica, antiinflamatoria, anticancerígena, antibacteriana y antioxidante, entre otras [22, 29, 31].

2.4. Proceso de producción de AEs

Existen varias técnicas para extraer los AEs de una planta. El proceso de producción involucra diversas etapas, siendo la extracción del aceite la más relevante. La metodología empleada en esta fase define el resto del procedimiento. Aunque los métodos de extracción de AE pueden variar, el proceso puede dividirse en 3 macroetapas, las que son descritas a continuación [28, 32].

2.4.1. Preparación de la materia prima

La primera etapa del proceso es la preparación de la materia prima, que comprende las operaciones de recolección, secado, trituración y almacenamiento, las cuales pueden o no incluirse. La metodología que se utiliza en cada operación y/o la existencia de la misma en el proceso dependerá de la especie de la que se extraerá el AE [23, 28, 29].

La recolección de la materia prima requiere saber qué partes de la planta acumulan AE, las cuales pueden ser la flor, fruto, hojas, etc., dependiendo de la especie. Además, existen diferencias en el rendimiento obtenido del aceite según la estación del año y hora del día en que se realiza la recolección. También cambia la composición del aceite según la geolocalización donde creció la planta y las condiciones a las que ha sido expuesta. Es necesario notar que en un proceso que utiliza materia prima vegetal salvaje, se debe tener en cuenta la sostenibilidad de la recolección. Es importante que el proceso de producción no afecte permanentemente al ecosistema donde se realice [23, 28, 29].

Generalmente, el rendimiento de la extracción de aceite es mayor en plantas sometidas a un proceso corto de secado que recién recolectadas. Por lo tanto, usualmente se incluye. Es posible realizar un secado en horno (a temperaturas lo suficientemente bajas para que no se dañe el material vegetal) o un secado a temperatura ambiente sin luz directa y con baja humedad, para evitar la descomposición del material. No se recomienda el secado completo de la planta, si no solamente parcial, para evitar que se pierda el AE que contiene [23, 28, 29].

La operación unitaria de trituración es usualmente llevada a cabo en el proceso de extracción de AE solo si el mismo se encuentra en semillas o ramas de la planta, dificultando la obtención debido a la menor cantidad de glándulas que almacenan AE expuestas. Si es posible llevar a cabo la extracción después del secado, no se requiere almacenar la materia prima. Sin embargo, en caso de necesitar almacenar el material vegetal (MV), se sugiere utilizar una cámara de refrigeración para evitar su descomposición [23, 28, 29].

2.4.2. Extracción por destilación

Existen diversas metodologías de extracción de aceites esenciales, siendo esta etapa la que define el proceso. En esta sección se habla de la metodología de destilación debido a que es la que se utiliza en el proceso, pero en el anexo A.3 se explican brevemente las otras metodologías existentes [21, 29].

La destilación utilizando agua, ya sea en estado gaseoso, líquido o su combinación, es la técnica más utilizada para llevar a cabo la extracción de AE en el ámbito industrial (a pequeñas y grandes escalas). También es ampliamente utilizada en procesos artesanales de extracción. La destilación, en su forma más simple, es la evaporación y posterior condensación de un líquido. Todos los líquidos se evaporan en cierta medida, incluso a temperatura ambiente. Cuando las moléculas de una sustancia reciben energía térmica, la convierten en energía cinética. La evaporación ocurre cuando debido al movimiento de las moléculas del líquido, alguna es expulsada hacia el aire. A mayor temperatura, mayor energía cinética, y por lo tanto, mayor evaporación. En el caso del proceso de extracción de AEs, durante la destilación, el MV se expone a agua líquida o gaseosa a elevadas temperaturas, para incrementar la evaporación del aceite esencial [20, 26].

El hecho de que el proceso ocurra a altas temperaturas genera que las células se expandan debido al calor y finalmente lleva al rompimiento celular, lo que permite que el AE sea liberado. Para que se pueda recolectar este aceite, se necesita que las moléculas del mismo se evaporen y sean arrastradas por el vapor de agua. Para asegurar que se evapore la mayor cantidad de componentes del AE, sería necesario llegar a temperaturas cercanas a su punto de ebullición [21].

La ebullición ocurre cuando la presión de vapor de un líquido es igual a la presión del sistema en el que se encuentra. El punto de ebullición de un AE suele estar en el rango de 200 a 300 °C, y llegar a estas temperaturas requiere energía. Por esto es que la destilación ocupa agua, generando un sistema líquido - líquido - gas. La destilación se basa en el principio de que, en una mezcla formada por dos líquidos inmiscibles, la presión de vapor total es igual a la suma de las presiones de vapor parciales de los líquidos. Esto se puede apreciar en la ecuación 2.1, siendo ρ la presión de vapor, en un sistema con dos líquidos inmiscibles A y B [25, 32].

$$\rho = \rho_A + \rho_B \quad (2.1)$$

Entonces, dado que ambas presiones de vapor contribuyen a la total de la mezcla, es más fácil que se iguale la presión de vapor total a la del sistema, lo que significaría la ebullición de la mezcla. Así, el punto de ebullición del AE al estar en una mezcla con agua, disminuye notablemente. Esto se puede comprobar en un diagrama de fases para un sistema líquido-vapor con presión constante, como el que se aprecia en la Figura 2.7.

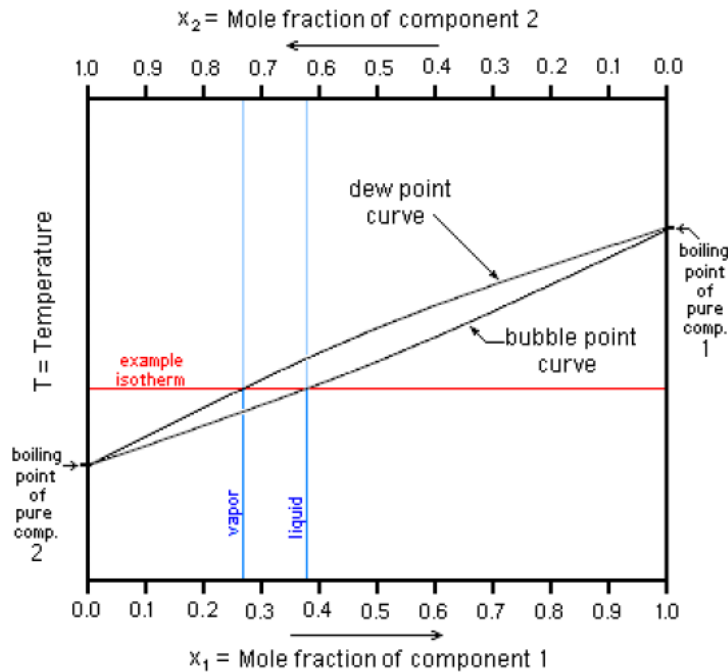


Figura 2.7: Diagrama de fases para mezcla de dos líquidos inmiscibles [33].

En la destilación, la proporción de agua utilizada es mucho mayor a la de AE, lo que hace que la temperatura en la que se logra que el sistema esté en estado gaseoso sea más cercana a la temperatura de ebullición del agua que la del AE.

El resto del proceso de destilación consiste en la condensación de los vapores que salen del equipo, los cuales contienen el AE extraído. El líquido resultante es recolectado, para finalmente pasar a la etapa de separación. En pequeña y mediana escala suele usarse un embudo de decantación para la recolección de la mezcla condensada, donde el hidrolato y el AE se separan debido a diferencia de densidades, quedando el aceite en una capa superior. Este embudo permite separar el aceite del hidrolato manualmente, a través de una llave de paso. En la Figura 2.8 se muestra una representación de lo que ocurre en esta parte del proceso.



Figura 2.8: Embudo de decantación con AE e hidrolato [34].

La diferencia entre los tipos de destilación se define según el contacto que tiene el MV con

el agua y el estado de esta en este punto. Así, en ciertos procesos se pone el MV en contacto directo con agua líquida y en otros se usa vapor de agua. El término hidrodestilación es utilizado para referirse generalmente a la metodología que utiliza solo agua en estado líquido, pero a veces se utiliza para agrupar las metodologías que utilizan agua como un conjunto o incluso para referirse a una metodología que use vapor. En este documento se utilizará de la primera forma, y se estudiarán los procesos de hidrodestilación, destilación vapor-agua y destilación por arrastre de vapor [20, 23].

La cantidad de aceite extraído en la destilación varía según el tiempo de extracción, las condiciones de operación y el tipo de destilación que se utilice. Generalmente, los rendimientos de extracción de aceite esencial varían entre el 0,005 % y el 10 %. Cabe notar que si bien el proceso en sí afecta este resultado, el principal factor es la especie de planta elegida (hay especies que de por sí producen más aceite esencial) y también de las condiciones de cultivo y recolección del MV [25, 35].

En la hidrodestilación, el MV mezclado con agua se lleva a altas temperaturas, hasta que el agua hierve. Además de la ruptura celular debido al calor, el AE también logra difundir por ósmosis a través de las células. Los vapores que salen del agua hirviendo contienen el AE y luego se hacen pasar por un condensador para recuperar el aceite. Es de las metodologías más simples para la extracción de AE, y no posee mayores requerimientos técnicos, pudiéndose incluso realizar en el hogar alterando levemente una olla, y de elegir comprar un equipo, estos suelen ser económicos [29, 36].

El mayor problema de esta metodología es que debido a que se expone el MV, y por consiguiente, el aceite a altas temperaturas y por largos periodos de tiempo, el calor altera la composición química del AE, afectando su olor y sus propiedades. A causa del calor, los compuestos terpénicos se degradan parcial o totalmente. El producto obtenido suele tener olor a quemado, característica indeseable comercialmente dado que los AEs se destacan por sus aromas. Además, este proceso suele tener bajos rendimientos. Debido a estas razones, es una metodología obsoleta a nivel industrial. Aún así, sigue siendo utilizada en el laboratorio, dado que es un proceso rápido, económico y no tiene muchos requerimientos técnicos [21, 26].

La destilación vapor-agua difiere de la hidrodestilación simplemente en que en vez de sumergir o mezclar el MV con agua, este se pone en una rejilla por encima del nivel del agua del equipo. Luego, al calentarse el agua, se empieza a evaporar y pasa a través del MV el vapor, extrayendo el AE. El resto del proceso es igual al de la hidrodestilación. En esta metodología, el tiempo de extracción es menor que en la hidrodestilación y el AE se quema un poco menos al no tener contacto directo con el agua, pero sigue siendo un problema la degradación del AE al sobrecalentarse. En la Figura 2.9 se aprecia un alambique, equipo utilizado generalmente en la destilación de vapor-agua [26, 35].

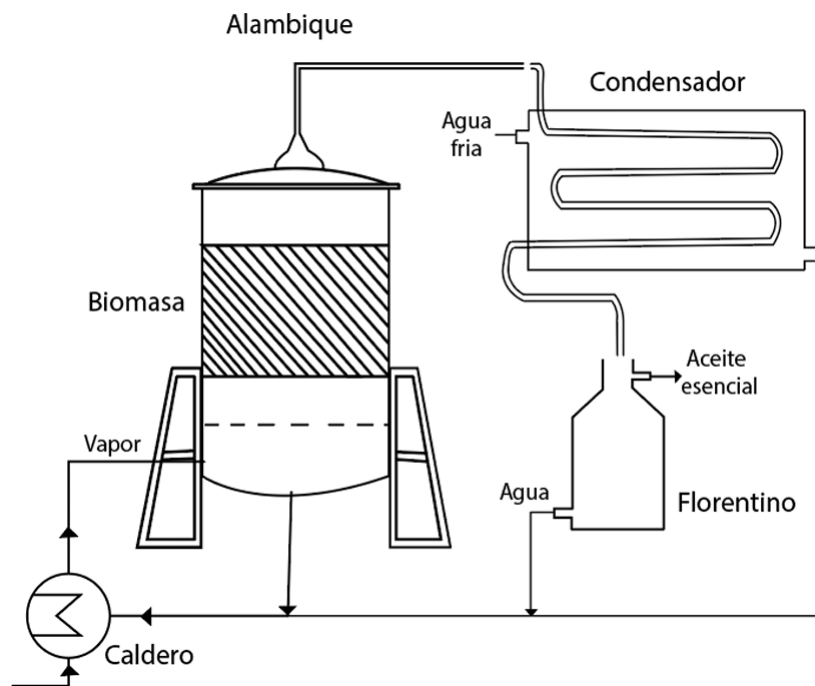


Figura 2.9: Ilustración del proceso de destilación [37].

El tipo de destilación más utilizado, especialmente a nivel industrial, es la destilación por arrastre de vapor. En esta metodología, el MV es puesto en una cámara y a través de esta se hace circular vapor. Esto entrega la libertad de utilizar vapor sobrecalentado, llegando a mayores temperaturas, lo que reduce el tiempo de extracción considerablemente con respecto a los métodos anteriores. En estos, al estar el MV en el mismo espacio que el agua, este se ve expuesto a altas temperaturas durante largos periodos de tiempo, generando que el AE se sobrecaliente [25, 32].

En la destilación por arrastre de vapor esto se evita dado que el vapor pasa a través del MV, generando contacto por menor tiempo con el aceite y la duración total del proceso es menor. Es utilizada a nivel industrial debido a que, aunque se necesita un equipo que permita generar la corriente de vapor, estos pueden encontrarse por precios moderados y no es necesario utilizar tecnología demasiado sofisticada. Además, es una metodología que genera buenos rendimientos y no necesita etapas posteriores de purificación [20, 21].

Los productos del proceso de destilación son dos. Por un lado se tiene el aceite esencial y por el otro, el agua condensada con que se extrajo. A esta se le llama hidrolato. El hidrolato posee trazas del aceite esencial, lo que genera que tenga un aroma similar a este pero un poco más leve. De la misma forma, puede tener las mismas propiedades pero en menor medida. Así, es un producto de interés que puede ser comercializado y suele ser llamado como agua de la planta en cuestión. Por ejemplo, en el caso de que la planta sea una rosa, recibe el nombre de agua de rosas. Este proceso entonces genera dos productos de valor, siendo esta otra de sus ventajas [23, 29].

2.4.3. Tratamiento del AE

Como se ha mencionado previamente, el proceso de tratamiento del AE varía según la metodología de extracción empleada. Esta fase macro puede comprender una o múltiples operaciones unitarias, y el nivel de purificación estará determinado por el propósito del AE. En términos generales, esta etapa inicial implica la separación del agua, solvente o fluido utilizado durante la transferencia de masa. Cuando se emplea agua, la separación se puede llevar a cabo mediante decantación, dado que el AE es hidrofóbico, lo que genera dos fases debido a diferencias de densidad. En el caso de solventes orgánicos, aceites y grasas vegetales, la separación se puede lograr mediante destilación, aprovechando las distintas volatilidades y puntos de ebullición de las sustancias involucradas [20, 21, 25, 28, 32].

2.5. Evaluación de la bioactividad de AEs

La siguiente sección se enfoca en la evaluación de los AEs, incluyendo su caracterización y análisis, las propiedades biológicas que poseen y la evaluación de las mismas. Se cubre en detalle la evaluación de las actividades antibacteriana y antioxidante, debido a que son las que se miden en el trabajo experimental de esta memoria.

2.5.1. Caracterización, análisis y control de los AEs

Los AEs han sido utilizados desde tiempos ancestrales hasta la actualidad debido a que poseen propiedades beneficiosas para el ser humano. El estudio de los AEs ha estado fuertemente ligado a las diversas propiedades que poseen. Así, se han desarrollado varias técnicas para estudiarlos.

Conocer la composición de un AE es útil de más de una forma. Por un lado, es importante identificar qué tipos de compuestos le entregan una cierta propiedad específica al AE. Con esta información se puede comparar la concentración de estos componentes entre AEs procedentes de distintas especies o de una misma especie. Esto permite realizar cambios en el proceso de cultivo o extracción que generen una mayor concentración de un compuesto de interés. Además, algunos componentes pueden ser útiles para la fabricación de medicamentos u otras funciones, por lo que también es importante aplicar metodologías para separar o aislar componentes específicos.

Por otro lado, dada la masificación en la producción de los AEs y su comercialización, ya sea como un ingrediente en un producto o si el mismo AE es el producto final, es necesario realizar análisis de calidad y pureza. Esto permite asegurar que el producto que se comercializa bajo el nombre de AE efectivamente lo sea. También se debe controlar, según los parámetros específicos de cada país, que cumplan con las normas de seguridad y sea seguro utilizarlos para el fin con el que se venden.

La caracterización de AEs puede ser llevada a cabo de distintas maneras y generalmente se dividen entre técnicas clásicas y técnicas modernas. Cuando se empezaron a estudiar los AEs, se buscaba crear un método de análisis que permitiera conocer los perfiles de los componentes volátiles de estos, pero a medida que se supo que están conformados por cientos de

compuestos distintos, se comprendió que esto no sería simple.

En las técnicas clásicas, el foco está principalmente en la identificación y pureza del AE, asegurando que pertenezca a la especie que dice ser y que no tenga contaminantes o diluyentes. Las pruebas que se aplican al AE son para determinar sus propiedades fisicoquímicas. Dentro de estas se utilizan mediciones de gravedad específica, que mide la densidad de una sustancia en comparación a la del agua, y el índice de refracción, que mide cuánto se refracta la luz al atravesar una sustancia. Para saber más sobre la composición del AE, se pueden realizar titulaciones o análisis gravimétrico, que entregan información sobre la concentración de algún compuesto[20, 23, 29, 32]

Las técnicas modernas de análisis se enfocan principalmente en conocer la composición de los AEs, y dentro de estas se utilizan distintos tipos de cromatografía y espectrometría[20, 23, 28]. Para más detalle en estas técnicas se puede revisar el anexo A.1

Para controlar la comercialización de los AEs, además de comprobar su pureza y corroborar su identidad con las pruebas ya descritas, se deben realizar pruebas de toxicidad y regulación, para asegurar que sea seguro utilizarlos. La extensión y rigurosidad de estos análisis dependen del uso que se les dé. Por ejemplo, al ser de uso cosmético deben ser seguros para utilizar en la piel pero no necesariamente como alimento. Si se quiere comercializar un AE señalando que posee propiedades terapéuticas, entonces, al menos en Chile, este entraría en la categoría de medicamento y debe ser aprobado y regularizado por el ISP.

2.5.2. Propiedades biológicas de los AEs

Los AEs poseen varias propiedades de interés para el ser humano, ya sea por sus beneficios a la salud o porque permiten utilizarlos como defensa contra plagas o microorganismos. Así, la aplicación de un AE puede ser dirigida hacia su uso humano o utilizada como herramienta por los humanos. Un AE puede tener varias de estas propiedades, las que son ampliamente estudiadas en las distintas especies de plantas aromáticas, con el fin de encontrar los usos que se le pueden dar.

Existe una gran variedad de estudios realizados a AEs de diversas especies con respecto a la presencia y cantidad de actividad de estas propiedades. Al tener ciertas propiedades, los AEs o componentes de estos pueden ser utilizados en la producción de fármacos, pesticidas, cosméticos, entre otros productos. Así, debido a que las industrias los buscan para aplicaciones específicas, no solo es relevante saber qué bioactividades posee un AE, sino también si el efecto que produce es significativo en comparación a otros AEs o a productos ya existentes en el mercado. Así, nace la necesidad de generar metodologías que permitan identificar y evaluar los efectos del AE.

Dentro de las actividades que tienen los AEs, están la actividad antimicrobiana (virus, bacterias, hongos), insecticida, antiinflamatoria, analgésica y anticancerígena, entre otras. La definición y la forma de acción de los AEs en cada actividad mencionada son descritas en el anexo A.2. En la siguiente sección se describen la actividad antibacteriana y antioxidante de los AEs, que son evaluadas experimentalmente en este trabajo.

2.5.3. Evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante

Las actividades antibacteriana y antioxidante son dos de las más estudiadas en los AEs. Esto es debido a que ambas tienen un gran valor hoy en día. Compuestos con estas propiedades son utilizados en la industria farmacéutica y cosmética. A continuación, se describen ambas actividades, incluyendo su relevancia y las formas en que se evalúan.

2.5.3.1. Actividad antibacteriana

Las bacterias son microorganismos procariontes presentes en todo el mundo. Son indispensables para la vida, teniendo importantes roles en los ciclos biogeoquímicos y formando relaciones simbióticas con muchos organismos. Sin embargo, también son capaces de infectar especies de flora y fauna, lo que tiene repercusiones para el ser humano. En la industria agronómica, se buscan compuestos con actividad antibacteriana para controlar el crecimiento de estas en los alimentos o cultivos, que generan pérdidas [22].

El mayor interés por esta propiedad viene de la industria farmacéutica. Las bacterias pueden causar diversas enfermedades en el ser humano, y sin tratamiento pueden causar la muerte. Desde principios del siglo XX se utilizan antibióticos para combatir estos patógenos. La cantidad de fármacos con esta función es limitada y existen bacterias multirresistentes a los mismos. La resistencia a los antibióticos es un problema a nivel mundial, que va empeorando año a año. Esto ha generado la necesidad de crear nuevos medicamentos para poder tratar las infecciones de bacterias resistentes a los disponibles [23, 25].

Muchas especies de organismos generan sustancias antibióticas como forma de protección contra las bacterias. El primer antibiótico fue descubierto por accidente en el estudio del hongo *Penicillium*, que generaba una sustancia (penicilina) que inhibía el crecimiento de estos microorganismos. De la misma manera, muchos otros fármacos con esta función han sido desarrollados a partir de sustancias o compuestos encontrados en la naturaleza. Aunque los antibióticos fueron desarrollados recientemente, las plantas aromáticas han sido utilizadas como remedios para combatir enfermedades e infecciones desde hace miles de años en muchas culturas [25].

Debido a la situación actual de crisis respecto a la resistencia a los antibióticos, dentro de la comunidad científica, muchos se dedican a buscar nuevas sustancias, naturales o sintéticas, que puedan utilizarse para la creación de nuevos medicamentos. En este contexto, una de las propiedades más estudiadas en los AEs es su capacidad antibiótica. Existe una gran cantidad de publicaciones con respecto al tema, abarcando una gran cantidad de microorganismos y especies de plantas. Últimamente, se ha empezado a explorar especies que vivan en ambientes distintos a los comunes, o que tengan menos contacto con los humanos, porque permite encontrar nuevos componentes que no se hayan probado antes [36, 38, 39].

En vista de la gran cantidad de componentes que tiene un AE, los mecanismos de su acción bactericida son numerosos y atacan a las bacterias de diversas formas. Aunque hay estudios donde la actividad antibacteriana de un AE es mayor que la de sus compuestos aislados, lo que se atribuye a mecanismos sinérgicos que pueden existir entre distintos componentes, generalmente se ha encontrado mayor actividad en componentes específicos. Los compuestos

fenólicos han demostrado ser los con mayor capacidad bactericida [40].

Se ha estudiado la efectividad de los AEs contra distintas células, probando tener buenos resultados tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas. Sin embargo, suelen ser más efectivos en contra de las Gram positivas, debido a que las Gram negativas poseen una capa extra que actúa como barrera para los componentes del AE [41].

Se ha propuesto que la principal acción antibacteriana de los AEs se debe a su naturaleza hidrofóbica y lipofílica, que permite que el AE interactúe con la membrana y pared celular de las bacterias, interfiriendo con su estructura lipídica. Pueden generar daño irreversible a estas, solubilizándolas y desestabilizando su estructura, que de por sí puede llevar a la lisis celular. Además, este daño puede interferir con la entrada y salida de moléculas a la célula, haciéndola más permeable. Esto provoca que se pierda contenido citoplasmático, incluyendo distintos iones o también moléculas energéticas como glucosa o ATP, entre otras. Estos compuestos son necesarios para el funcionamiento de la célula y al perderlos de una manera significativa, se produce la muerte celular [42].

Otras formas en que actúan los AEs contra las bacterias incluyen la inhibición de la producción o actividad de algunas enzimas, la interferencia con el flujo de electrones y la coagulación del contenido celular. Todas estas acciones llevan a la lisis celular. También pueden afectar los mecanismos de reproducción celular, impidiendo la misma, y por lo tanto, impidiendo el crecimiento de la infección. Otra cualidad que se ha estudiado es la inhibición de la comunicación celular, impidiendo que las bacterias crezcan formando biofilms [43].

La actividad antibacteriana que muestran los AEs suele ser menor a la de los antibióticos u otros compuestos químicos utilizados como bactericidas, pero se estudian igualmente debido a que a partir de estos se pueden desarrollar nuevos productos y fármacos [40]. Si bien existen varias formas de evaluar esta propiedad, destacan notoriamente tres metodologías [38].

La más utilizada es el método de difusión en agar, debido a su simpleza, efectividad y eficiencia. En esta metodología, se coloca el AE sobre una placa de agar sólida. Existen dos formas de realizarlo, impregnando con AE un disco de papel de filtro posicionado en la superficie del agar o realizando un agujero en el agar y vertiendo el AE en este. La placa debe ser previamente inoculada con un microorganismo de interés. El AE puede ser disuelto en algún solvente antes de aplicarlo en el agar si se considera necesario. Al aplicarlo sobre el agar, este difundirá en la superficie del mismo. Las placas petri se dejan incubar y luego, si el AE posee actividad antibacteriana, se genera una zona de inhibición alrededor del punto donde se aplicó. Generalmente, mientras más grande es la zona de inhibición, se infiere que es mayor la capacidad antibacteriana. En la Figura 2.10 se muestra un antibiograma.

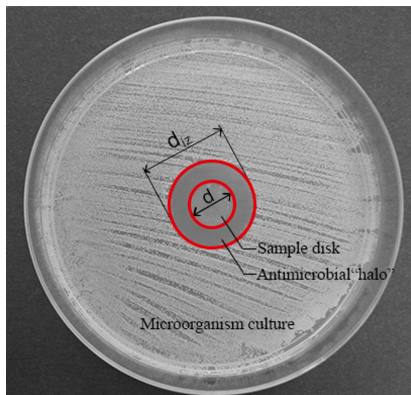


Figura 2.10: Metodología de difusión de disco en agar [44]

Una desventaja de esta metodología es que se basa en la capacidad de difusión del AE, los que al ser hidrofóbicos tienden a difundir pobremente en el medio de agar. Así, un AE con efectos antibacterianos pero que difundió poco en la placa, generará una zona de inhibición pequeña. En consecuencia, tener un resultado negativo o bajo de inhibición no necesariamente implica la falta de actividad antibacteriana de un compuesto. Otros factores también pueden influir en el tamaño de la zona de inhibición, como el tamaño del disco o los agujeros, volumen de agar utilizado, composición del medio de cultivo, el pH y la temperatura, entre otros [43].

Este método es utilizado para medir la acción de diversos antibióticos y se encuentra validado por más de una institución científica. Sin embargo, debido a las razones expuestas, para analizar la actividad antibacteriana de un AE, los resultados deben tomarse como los de una prueba exploratoria y no definitiva [41].

Otra metodología que se utiliza es la prueba de dilución. En esta se diluye el AE en un caldo de cultivo líquido o en un medio de cultivo de agar semisólido, probando distintas concentraciones del aceite. El medio luego se inocula con el microorganismo de interés y se deja incubar. Finalmente, se observa el desarrollo microbiano o ausencia del mismo. A modo de resultado, se define la concentración mínima inhibitoria (CMI) como la concentración mínima de AE que impide el crecimiento bacteriano [39].

La prueba de dilución es un método simple y los resultados se pueden observar a simple vista. Sin embargo, uno de los problemas que conlleva es que debido a la baja solubilidad en agua de los AEs, en muchas ocasiones es necesario añadir un solvente, los que pueden influir en los resultados. Además, muchos otros factores pueden influir en la capacidad inhibitoria del AE, como los mencionados para la metodología anterior [38].

La última de las metodologías que se utiliza es la prueba de la fase de vapor. Esta no está estandarizada y en la bibliografía existen variaciones, pero la más común es la prueba de la placa de petri invertida. En este método, se utiliza un disco de papel, vaso o recipiente conteniendo la muestra de AE al que se le pone una placa de agar invertida arriba, previamente inoculada con un microorganismo. Debido a la alta volatilidad de los AEs, este se evaporará y tendrá contacto con la superficie del agar. Luego de un periodo de incubación, se mide la acción antibacteriana según la zona de inhibición generada, o si se prueban distintas

concentraciones de AE, con la CMI [43].

2.5.3.2. Actividad antioxidante

El conjunto de reacciones bioquímicas que se producen en una célula se denomina metabolismo celular. El correcto funcionamiento de éste es necesario para la supervivencia de cualquier organismo. Dentro del metabolismo celular se encuentran diversos tipos de reacciones, que permiten que la célula logre reproducirse, obtener energía, mantener la homeostasis, entre otras funciones. Un tipo de reacción clave en el metabolismo son las reacciones de óxido-reducción [22, 45].

En la química, la oxidación se refiere a la pérdida de electrones por parte de un átomo o molécula, y la reducción como la ganancia de estos. Cuando ocurre una reacción de oxidación, otra molécula acepta los electrones de la que los perdió, y por esto es que son llamadas reacciones de óxido-reducción (o REDOX) [23]. Estas reacciones son imprescindibles para la vida.

En la mayoría de las reacciones celulares REDOX se forman radicales libres (RL). Los RL son moléculas que se caracterizan por tener uno o más electrones desapareados en su orbital más externo, que generalmente se forman como intermediarios [28]. Debido a que poseen electrones desapareados, son extremadamente reactivos e inestables, y tienen una vida media efímera, reaccionando rápidamente para conseguir mayor estabilidad al aparear sus electrones. Aunque tienen funciones esenciales en el metabolismo, debido a su naturaleza, atacan a otras moléculas para lograr la estabilidad, pudiendo generar daño a las mismas. Los seres vivos tienen mecanismos para prevenir y reparar este daño. Cualquier sustancia o molécula que ayude a proteger del daño de los RL, se clasifica como antioxidante [31]. En la Figura 2.11, se aprecia la interacción antioxidante contra los radicales libres de la vitamina E, uno de los antioxidantes naturales más conocidos.

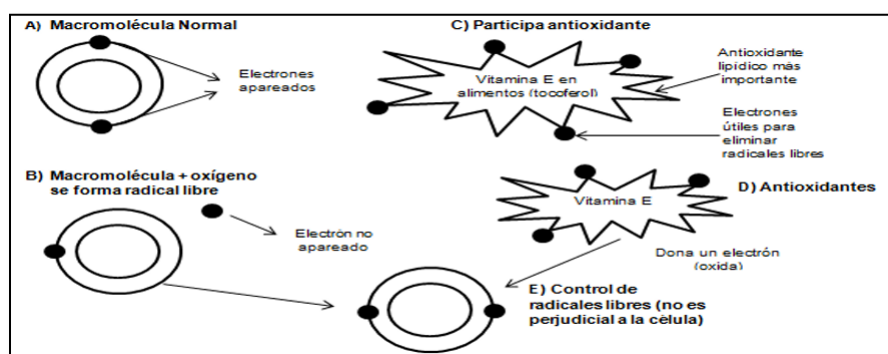


Figura 2.11: Interacción entre radicales libres y antioxidante (Vitamina E) [46]

En condiciones de homeostasis, la acción oxidativa y antioxidativa de un organismo se encuentran en equilibrio. Cuando la primera es mayor a la segunda, se tiene una condición llamada estrés oxidativo. En esta, hay un desequilibrio entre la concentración de agentes antioxidantes y RL, que genera una acumulación de los últimos. Sin suficientes antioxidantes, la concentración de los RL aumenta y por lo tanto también el daño que estos provocan [39].

Una forma de clasificar los antioxidantes, es según si son formados o no por el organismo. Así, las enzimas antioxidantes y de reparación son catalogadas como antioxidantes endógenos. La concentración de estas depende de los mecanismos de regulación del organismo. El cuerpo también produce algunas sustancias antioxidantes no enzimáticas, pero la mayoría de estas no pueden ser producidas por el cuerpo humano y por lo tanto deben obtenerse de otras formas. Cuando este es el caso, se clasifican como antioxidantes exógenos [41].

La principal forma de obtener antioxidantes exógenos es ingerirlos a través de la dieta. Algunos ejemplos de estos son las vitaminas A, C y E, los carotenoides y los compuestos fenólicos. Las frutas, verduras y cereales suelen ser fuentes ricas en antioxidantes [47]. Algunos de estos pueden ser consumidos de forma concentrada como suplementos alimenticios y también existen antioxidantes sintéticos, pero a estos últimos se han asociado algunos efectos negativos para la salud [48].

Hoy en día, la exposición a muchos de los factores que causan el estrés oxidativo ha aumentado. Para neutralizar el consecuente aumento de RL, se vuelve necesario incrementar el consumo de antioxidantes exógenos. Los AEs son una fuente natural de vitaminas y compuestos fenólicos, por lo que normalmente poseen actividad antioxidante [49]. De esta manera, es de interés estudiar la magnitud de la capacidad antioxidante de los mismos, por sus posibles aplicaciones en la salud humana o en la preservación de alimentos. Cabe destacar que las propiedades antioxidantes de los AEs contribuyen a otras de las bioactividades descritas, dentro de estas la actividad antibacteriana, antiinflamatoria y especialmente anticancerígena, debido a que al generar daño en el ADN, los RL pueden incitar la creación de tumores [50].

Existen numerosas metodologías para medir la actividad antioxidante de una sustancia. En general, se recomienda realizar más de una debido a que un antioxidante puede reaccionar de forma distinta con distintos RL. En el caso de los AEs esto se vuelve aún más relevante debido a su complejidad química, la que implica la presencia de diferentes compuestos antioxidantes [51]. Dependiendo de la prueba que se utilice y la composición del AE, los resultados pueden variar, por lo que para obtener conclusiones relevantes con respecto al efecto antioxidante se debe realizar más de un ensayo [52].

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, sino que se evalúa la capacidad de una sustancia de controlar los niveles de oxidación, y para esto existen muchos ensayos diferentes. Según la sustancia antioxidante que se quiera evaluar, se deben elegir pruebas adecuadas para la misma, considerando dos factores principales [53].

Por un lado, las metodologías utilizadas para medir esta propiedad pueden dividirse en dos grupos según las reacciones que ocurren al aplicarla. Están los métodos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno y en la transferencia de electrones únicos. Como lo dicen sus nombres, se refieren a la forma en que un antioxidante neutraliza un RL. Hay metodologías que evalúan solo uno de estos mecanismos por lo que es relevante elegir una apropiada [53]. Por otro lado, las moléculas antioxidantes pueden tener naturaleza hidrofílica o lipofílica. Para que se mida correctamente la capacidad antioxidante, es necesario que el sistema y los RL sean compatibles con la molécula de interés. Muchos ensayos pueden ser adaptados para medir la actividad de uno u otro tipo de antioxidantes al cambiar la fuente de RL, e incluso algunos pueden hacerlo de forma simultánea [23].

Debido a la complejidad química de los AEs y la diversidad de moléculas antioxidantes que pueden poseer, en la evaluación de esta actividad en estos compuestos suelen utilizarse pruebas que sirvan para ambos mecanismos de acción y ambas naturalezas químicas. Además, en muchos casos la actividad antioxidante no puede ser atribuida solo a un componente. Muchos componentes minoritarios cumplen un importante rol, debido a la sinergia de los distintos mecanismos [28].

Dentro de las pruebas que pueden medir ambos mecanismos de acción, se tienen el método del radical DPPH•, del radical ABTS•⁺ (o ensayo TEAC) y el método de Folin-Ciocalteu. Este último se utiliza para medir los compuestos fenólicos totales de una sustancia, sin considerar la actividad de otras moléculas antioxidantes [22]. Los primeros dos métodos, en conjunto con el ensayo de quimioluminiscencia por fotosensibilización (PCL), son de los pocos que pueden determinar tanto la actividad hidrofílica como lipofílica. A continuación se describen entonces, el ensayo TEAC y del radical DPPH•, dado que estas dos metodologías son de las más utilizadas y suelen aplicarse en conjunto para evaluar la actividad antioxidante [31].

En el ensayo TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) se utiliza el radical del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotioazolín-6-sulfónico) (ABTS), que se basa en la captación de las moléculas antioxidantes por el catión ABTS•⁺. Este RL es de color azul verdoso, y al reaccionar con un antioxidante vuelve a su estado neutro, que es incoloro. Para llevar a cabo esta metodología, se elabora una solución con el ácido ABTS y un agente oxidante, para llevarlo a su forma de catión. Luego se agrega la sustancia antioxidante en distintas concentraciones [39].

La actividad antioxidante se determina con la disminución de la absorbancia después de transcurrido un tiempo, en el que actúan los antioxidantes. Mientras mayor es la disminución de la absorbancia, mayor capacidad antioxidante. Es un método simple y eficaz, sin embargo el ABTS•⁺ no es un radical presente en mamíferos, por lo que su uso para estudiar aplicaciones biológicas ha sido criticado. Los resultados se expresan como equivalentes de Trolox (de ahí el nombre del método) [41].

Trolox es un análogo sintético de la vitamina E, que es soluble en agua y tiene gran capacidad antioxidante. Debido a estas características suele utilizarse en los ensayos que miden esta propiedad. Se crea una curva de referencia con Trolox como estándar y luego los valores obtenidos con esta son comparados con los de la sustancia que se estudia. Luego la actividad antioxidante total se expresa como micromoles de Equivalentes Trolox por unidad de peso o volumen de la muestra. Este valor se calcula comparando el valor IC_{50} de la curva de Trolox con la de la muestra (IC_{50} corresponde a la concentración a la cual el porcentaje de inhibición es igual a 50 %) [47].

El método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) mide la capacidad de la sustancia analizada de neutralizar este RL. El DPPH• en solución tiene color violeta y cuando vuelve a su forma neutra cambia a color amarillo, por lo que con un espectrofotómetro se evalúa la actividad antioxidante midiendo la disminución de la absorbancia. Para este ensayo también se puede utilizar Trolox como estándar, pero los resultados suelen expresarse como porcentaje de inhibición y el valor IC_{50} [48]. Es un método sencillo que permite medir la

actividad antioxidante de manera relativamente rápida. Es de las pruebas más utilizadas y suele ser el primer ensayo que se realiza al estudiar propiedades antioxidantes en una sustancia, más aún si no se conoce la composición específica de la misma. Una de las desventajas de esta metodología es que factores como el tipo y cantidad de solvente o la presencia de componentes que absorban la misma longitud de onda que el DPPH• pueden influir en los resultados [49].

2.6. Estudios previos a las especies de interés

A continuación, se presenta una revisión del estado del arte relacionado con los estudios sobre la bioactividad y el proceso de extracción por hidrodestilación de AEs de las tres especies de interés: *Parastrephia lepidophylla* o Sipotola, *Parastrephia lucida* o Humatola y *Senecio nutans* o Chachacoma.

2.6.1. *Parastrephia lepidophylla* o Sipotola

Dentro de la investigación llevada a cabo, no se encontró información asociada a rendimientos ni propiedades del AE extraído de *P. lepidophylla*, pero si se han realizado estudios a otros extractos de la planta.

Así, se tiene que extractos etanólicos de esta especie han demostrado actividad antiinflamatoria [54, 55], propiedades antioxidantes y factor de protección solar intermedios [56] y actividades antifúngicas contra distintas especies [57], siendo los que demuestran mayor acción contra especies fungi que causan infecciones en cítricos al comparar 9 especies distintas [58]. Otros estudios que comparan los extractos etanólicos de diversas especies, han demostrado que tiene una relevante actividad antiproliferativa y uno de los mejores efectos antimicrobianos contra bacterias Gram-positivas e intermedios contra las Gram-negativas [59, 60].

Además de esto, componentes aislados de esta especie han evidenciado significativas propiedades analgésicas y antioxidantes [61] e infusiones herbales de la misma obtuvieron resultados intermedios en cuanto a capacidad antioxidante y cantidad fenólica al compararlos con otras 12 especies que crecen en el altiplano chileno [62].

En la bibliografía encontrada concerniente a esta planta, no se reportan rendimientos con respecto al proceso de extracción del AE por destilación de la planta.

2.6.2. *Parastrephia lucida* o Humatola

Se han analizado diversas propiedades de la especie *P. lucida* (Humatola), a partir de extractos de Perú, Bolivia, Argentina y Chile. Se han identificado al menos 42 compuestos fenólicos al realizar extracciones con etanol de los mismos [63].

Se han hecho estudios sobre extractos alcohólicos de esta planta. Por un lado, extractos metanólicos han demostrado actividad antiinflamatoria (en ensayos *in vitro*) [64] y actividad antibacteriana moderada o fuerte dependiendo el microorganismo contra el que se probó [65].

Por otro lado, extractos etanólicos han demostrado actividad antioxidante y antiinflamatoria en ensayos *in vitro* [55, 63, 66, 67]. Cabe destacar que en estudios que comparan los resultados de extractos etanólicos de más de 10 especies, los de *P. lucida* (Humatola) fueron los con mejores efectos antibacterianos contra bacterias Gram+ [68] y demostraron la mayor inhibición de la fosfolipasa A₂ (que es un indicador de actividad antiinflamatoria) [60].

El AE extraído de esta especie a demostrado actividad acaricida contra ácaros de la sarna, actividad antifúngica (cuando se utiliza AE recuperado desde el hidrolato) y actividad antibacteriana [69, 70, 71]. Con respecto a esta última, si bien el AE fue efectivo contra un amplio espectro de microorganismos (incluyendo Gram+ y Gram-), se demostró que extractos apolares de la planta tenían mayor actividad [71]. En estudios que comparan infusiones herbales de hasta 12 plantas distintas del altiplano chileno, las de *P. lucida* (Humatola) demostraron gran actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos [62, 72].

Al igual que en la especie anterior, en la bibliografía encontrada concerniente a esta planta, no se reportan rendimientos con respecto al proceso de extracción del AE por destilación de la planta.

2.6.3. *Senecio nutans* o Chachacoma

De las 3 especies en estudio, *S. nutans* (Chachacoma) ha sido la más estudiada. Se ha logrado identificar la presencia de al menos 46 componentes distintos en el AE de esta planta [73], y en extractos etanólicos se ha comprobado un gran contenido de fenoles [74].

Se han estudiado ampliamente los efectos de extractos etanólicos de esta especie. Han demostrado actividad antibacteriana contra microorganismos Gram+ y Gram-, siendo el efecto moderado en comparación a antibióticos, pero usualmente mayor a extractos de otras especies [74, 75, 76, 77]. Dentro de esta bioactividad, también se ha observado su efectividad contra bacterias que provocan infecciones del tracto urinario en humanos [78].

Se han obtenido resultados prometedores de actividad antioxidante a través de distintas metodologías (como DPPH, TEAC y FRAP) [74, 79]. Se han descubierto posibles aplicaciones farmacológicas debido a que posee acción anticancerígena específica contra tumores de células mamarias, teniendo efectos citotóxicos contra estas pero sin afectar células no cancerígenas [80] y además porque se ha demostrado que podría ser utilizado como un agente hipotensor [81].

Diferentes compuestos aislados de extractos de la planta han demostrado actividades antibacteriana (selectiva contra bacterias gram positivas), citotóxica y antifúngica [82, 83, 84]. El AE de *S. Nutans* (Chachacoma) ha demostrado actividad insecticida, antifúngica y antibacteriana, obteniendo resultados prometedores para esta última, siendo incluso activo contra algunas cepas resistentes a antibióticos [85, 86, 87, 88, 89]. También se ha evaluado la actividad antioxidante de infusiones herbales de esta especie, demostrando gran actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos, en estudios que comparan hasta 13 especies [62, 90].

Se han reportado rendimientos de extracción del AE con valores entre 0,1% y 0,57% a través de extracciones por hidrodestilación [73, 85, 86, 91]. Por destilación por arrastre de

vapor, tomando en cuenta el peso seco de materia vegetal, se han obtenido rendimientos de 1,26 % [89]. También se han logrado rendimientos de aproximadamente 1,42 %, sin embargo no se entrega información sobre el proceso de extracción del AE [87].

Capítulo 3

Materiales y Metodología

En este capítulo se presentan los materiales, equipos y metodologías utilizadas durante el proceso de extracción y evaluación de las bioactividades antibacteriana y antioxidante de los AEs de las especies *Parastrephia lepidophylla* (Sipotola), *Parastrephia lucida* (Humatola) y *Senecio nutans* (Chachacoma). El procedimiento descrito es análogo para las 3 plantas.

3.1. Investigación

Para el desarrollo de esta investigación, se llevó a cabo una búsqueda exhaustiva del marco teórico relacionado con el diseño del proceso de extracción y caracterización de AEs desde plantas de la comunidad Aymara de Tacora. Esta búsqueda se realizó con el objetivo de recopilar la información más relevante y actualizada en el campo de la extracción de AEs, así como en las prácticas tradicionales de la comunidad Aymara en relación con el uso de plantas medicinales y la actividad y la evaluación de las propiedades de las plantas nativas *Parastrephia lepidophylla* (Sipotola), *Parastrephia lucida* (Humatola) y *Senecio nutans* (Chachacoma).

La búsqueda bibliográfica se lleva a cabo mediante el análisis de fuentes bibliográficas electrónicas, como artículos científicos y tesis previas, utilizando una variedad de bases de datos académicas y científicas.

Además, se realizó una visita de terreno a Tacora durante el mes de mayo de 2023, con el propósito de establecer contacto directo con la comunidad Aymara. Se recopiló información mediante conversaciones con miembros de la comunidad, centradas en aspectos como su cosmovisión, el uso tradicional de las especies vegetales estudiadas, y detalles técnicos sobre los métodos de extracción vigentes, como el macerado, y los requisitos que el diseño del proceso debía cumplir según las condiciones locales. Este enfoque permitió complementar la información recopilada en la revisión bibliográfica.

3.2. Preparación del material vegetal (MV)

3.2.1. Recolección

Las muestras de las plantas nativas *Parastrephia lepidophylla* (Sipotola), *Parastrephia lucida* (Humatola) y *Senecio nutans* (Chachacoma) fueron recolectadas en las cercanías del poblado de Tacora, ubicado en la comuna General Lagos, durante el mes de mayo de 2023, en la estación de otoño. Se seleccionaron ramas y hojas de plantas adultas de las 3 especies para la recolección. Este proceso se llevó a cabo en colaboración con miembros de la comunidad Aymara, quienes proporcionaron orientación y conocimientos locales. Siguiendo sus indicaciones, se recolectaron cantidades limitadas de ramas de cada planta, garantizando así la preservación y sostenibilidad de la población vegetal en su entorno natural.

Para la recolección y almacenamiento del MV, se utilizaron bolsas plásticas herméticas, asegurando condiciones óptimas de conservación.

3.2.2. Traslado y secado

Las muestras recolectadas se almacenaron inicialmente a temperatura ambiente y resguardadas de la luz solar directa durante todo el período de terreno. Posteriormente, fueron cuidadosamente guardadas en bolsas plásticas herméticas, cada una con papel absorbente para garantizar condiciones óptimas durante su transporte y la manipulación en el laboratorio. Para su envío desde la ciudad de Arica hasta Santiago, se utilizaron servicios de encomienda (Chilexpress), que demoraron 3 días en entregar las plantas. Una vez en Santiago, las plantas fueron sometidas a un proceso de secado durante 2 semanas, dispuestas sobre una superficie plana y protegidas de la luz directa, manteniendo una temperatura ambiente constante (aproximadamente 20-25°C).

3.3. Obtención del AE

3.3.1. Extracción del AE

La extracción de aceites esenciales (AEs) fue llevada a cabo en la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile, utilizando el método de destilación vapor-agua. Se empleó un hidrodestilador AE30, que consiste en un contenedor de acero inoxidable con capacidad de 30 litros, una parrilla para colocar el MV por encima del nivel del agua, y un condensador de carcasa y tubos que utiliza agua corriente como refrigerante. La tapa del contenedor es hermética, funcionando como una olla a presión, y el equipo tiene integrado un termómetro analógico para indicar la temperatura interna. El equipo puede verse en la Figura 3.1.



Figura 3.1: Destilador AE30

El equipo se llenó con 4 litros de agua destilada y se situaron 250 gramos de MV seco sobre la parrilla. Se utilizó gas licuado como fuente de calor, manteniéndolo al máximo hasta llegar a una temperatura de 100°C y luego al mínimo mientras se realizaba la extracción durante dos horas. La extracción se realizó en duplicado.

3.3.2. Separación del AE

El producto de la destilación se recolectó en un embudo de decantación, donde se dejó la mezcla durante una hora para permitir la separación por diferencia de densidades. El producto se separa en dos fases, una hidrofóbica de AE en la parte superior y una hidrofílica de hidrolato en la parte inferior. Luego, se separó el AE utilizando la llave de paso del embudo, intentando que la cantidad hidrolato sea la menor posible. Se almacenó en tubos Falcon de 15 mL.

La separación final se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la Universidad de Chile, centrifugando los tubos de AE con restos de hidrolatos. Se utilizó la centrifuga Z 327 K de Hermle, durante 10 minutos a 10.000 G, y luego se recuperó el AE con una pipeta P1000, almacenándolo en tubos Eppendorf de 1,5 mL, en oscuridad a una temperatura de 4°C.

3.3.3. Rendimiento

El rendimiento del AE fue obtenido con la ecuación 3.1

$$R = \frac{V \ mLAE}{m \ gMV} \quad (3.1)$$

Donde R es el rendimiento, V es el volumen de AE obtenido en mililitros y m es la masa de MV seco en gramos.

3.4. Evaluación actividad antibacteriana

Se evaluó la actividad antibacteriana de los AEs contra una cepa de bacteria en particular, utilizando el método de difusión de disco. Para esto, se sembraron colonias de la cepa *E. coli* top10 en placas de agar durante 24 horas a una temperatura de 37 °C. Luego, se utilizó el método de McFarland para cuantificar los microorganismos, tomando una colonia de *E. coli* y resuspendiéndola en 1 mL de agua destilada. Se mide la absorbancia de 100 μL de esta suspensión a 625 nm. Se considera aceptable si el valor está entre 0,08 y 0,1.

Para el método de difusión de disco, se sembraron 100 μL de la suspensión del microorganismo en placas Petri con Agar Müller-Hinton (AMH) usando un rastrillo de vidrio estéril. Luego de 30 minutos, se colocó en el centro de la placa un disco de 6 mm de papel de filtro estéril, al que se le agregan 10 μL de AE. Las placas se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Como control positivo se prepara una muestra de Ampicilina (Sigma-aldrich, CAS 69-52-3), siguiendo el mismo procedimiento. También se siembran bacterias en un control negativo, incluyendo el disco de papel sin impregnarlo con nada. Luego de esto, se midieron los radios de inhibición del crecimiento microbiano alrededor del disco, siguiendo el halo que se forma, de la manera expuesta en la Figura 2.10. Para analizar los resultados se comparan los radios generados por el AE con el del control positivo. El ensayo se realiza por triplicado.

3.5. Evaluación actividad antioxidante

La actividad antioxidante fue medida con el ensayo del radical DPPH \bullet . Para esto, se hizo una solución metanólica de DPPH \bullet , tomando 150 mg de DPPH \bullet (Sigma) y se disolvieron en 7 mL de metanol puro. La solución se almacenó en oscuridad por 24 horas. Después de esto, se tomaron alícuotas y se midió la absorbancia a 517 nm con el espectrofotómetro BioChrom Libra, diluyendo con metanol hasta lograr un valor de absorbancia ajustado de $0,300 \pm 0,005$ (utilizando metanol como blanco del equipo).

Se preparó una solución concentrada de 10000 ppm, diluyendo 10 μL de AE en 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) y a partir de esta se prepararon diluciones a concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1000 ppm. Para las muestras, se tomaron 16 μL de cada dilución y se adicionaron 384 μL de la solución de DPPH \bullet . Como blanco se utilizó una solución de 16 μL de cada dilución y se adicionaron 384 μL de metanol y como referencia se preparó una solución con 16 μL de DMSO y 384 μL de la solución de DPPH \bullet . Se midió la absorbancia inicial y luego cada 5 minutos durante 30 minutos. El ensayo se realizó por triplicado. La absorbancia se midió a 517 nm en el espectrofotómetro SPECTROstar Omega (BMGLabtech, Alemania). Las soluciones a medir fueron puestas en una placa de 96 pocillos Thermo Scientific. Los resultados se procesaron con el software Omegacontrol V. 5,5 R4 y se visualizaron en el software Omega MARS V. 3,32 R5. Los datos obtenidos se guardaron en una planilla Excel.

El porcentaje de inhibición se calculó con la ecuación 3.2, siendo A_i la absorbancia de i. Se obtuvo el porcentaje de inhibición para cada concentración de AE.

$$\%Inh = \left(1 - \frac{A_{muestra} - A_{blanco}}{A_{referencia}} \right) * 100 \quad (3.2)$$

Con los resultados de los porcentajes de inhibición, se obtuvo la línea de tendencia y con esta se calculó el valor IC50, que corresponde a la concentración que se necesita para alcanzar un 50 % de inhibición. También se midió la actividad antioxidante comparando los resultados obtenidos con la curva de referencia construida con Trolox como patrón primario, expresando los resultados como valores TEAC ($\mu\text{mol Trolox}/100\text{g}$ de muestra).

Capítulo 4

Resultados y Discusiones del Trabajo Experimental

En este capítulo se presentan los principales resultados experimentales (rendimiento, evaluación de actividad antibacteriana y antioxidante) de esta memoria junto con las discusiones de los mismos.

4.1. Rendimiento de la extracción del AE

La extracción se realizó con destilación vapor-agua, utilizando 250 gramos de MV seco y 4 litros de agua en un alambique, durante dos horas. Luego de esto se recuperó el AE obtenido. Los rendimientos se obtuvieron según los volúmenes extraídos. Los rendimientos de las 3 especies se pueden observar en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1: Rendimientos del proceso de extracción de las 3 especies en estudio (expresado en [mL] de AE por [mg] de MV seco).

Especie	Rendimiento [mL/mg]
<i>P. lepidophylla</i>	1,1 ± 0,2
<i>P. lucida</i>	0,9 ± 0,5
<i>S. nutans</i>	5,3 ± 0,3

Para comparar con la bibliografía, se calculó el rendimiento porcentual masa/masa. Para calcular la masa de AE obtenida se utilizó la densidad de *S. nutans* (Chachacoma), que es de 0,873 [g/mL] [92]. Este dato se utiliza para las 3 especies a falta de información para las otras 2. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2: Rendimientos porcentuales masa masa para las 3 especies en estudio.

Especie	Rendimiento [%m/m]
<i>P. lepidophylla</i>	0,07 %
<i>P. lucida</i>	0,05 %
<i>S. nutans</i>	0,33 %

Los rendimientos de los AEs suelen tener valores bajos. En la mayoría de las extracciones de AE de plantas aromáticas, los rendimientos tienen valores entre 0,01 % y 2 %, con la excepción de pocas especies que logran resultados cercanos al 15 % (como el clavo de olor y la nuez moscada) [28, 82]. Así, los resultados de la extracción se encuentran dentro de los rangos esperados.

El mayor rendimiento obtenido fue en la especie *S. nutans*, y el valor es similar a los reportados en otros estudios, estando cerca del límite superior del rango de investigaciones que utilizaron hidrodestilación. Sin embargo, cabe notar que en estudios que utilizaron destilación por arrastre de vapor, se obtuvieron mejores resultados, con un rendimiento de 1,42 % [87]. Esta diferencia es notable pero acorde a la investigación realizada, dado que la destilación por arrastre de vapor suele obtener mejores rendimientos que la de vapor-agua o hidrodestilación. Se esperaría que la misma situación ocurriera con las otras dos plantas al usar esta metodología.

Las especies *P. lepidophylla* y *P. lucida* obtuvieron valores más bajos de rendimiento pero dentro de rangos normales. La producción de estos AEs, por lo tanto, implicaría una mayor cantidad de MV, lo que debe considerarse al fijar metas de producción.

También es necesario notar que los resultados para *P. lucida* tienen una gran variación entre sí (viendo la desviación). Esto se debe a que durante una de las extracciones hubo pérdidas de AE por problemas en la etapa de separación. Esto implica que el rendimiento real es mayor al obtenido, pero se decidió trabajar con el resultado expuesto para no sobrestimar el rendimiento.

Aún con estos resultados, los rendimientos que se obtengan al implementar el proceso podrían variar. Como se mencionó anteriormente, existen muchos factores que pueden influir en la cantidad de AE que produce una planta, como el clima, la cantidad de agua, presencia de insectos o microorganismos, y la época del año en que se haga la recolección [28]. Este último factor debería estudiarse una vez implementado el proceso, para recolectar en estaciones donde se obtengan mayores rendimientos y permitir que las plantas sigan su ciclo de reproducción durante las otras, para conservar de manera sustentable las poblaciones de estas especies.

También es necesario considerar que el rendimiento cambiará debido a las condiciones en que se llevó a cabo la extracción, dado el traslado de las plantas y que fue en menor escala que el proceso diseñado. Además, cabe notar que debido a la disponibilidad del destilador, las 3 especies tuvieron distintos tiempos de secado, lo que también afecta el rendimiento.

Además de factores que influyen en la concentración de AE que tiene una planta, es nece-

sario notar que el traslado de las muestras sin estar secas desde Tacora hasta Santiago puede haber influido en los resultados. Al estar húmedas y ser transportadas en bolsas selladas y expuestas a condiciones no controladas, se pudo haber perdido una fracción de aceite por la evaporación del agua presente en la planta o haberse concentrado debido a esto mismo. Sería de interés obtener los resultados de rendimiento realizando el proceso de extracción en el mismo lugar de recolección, para poder realizar balances de masa y calcular niveles de producción de forma más exacta.

Estos resultados son nuevos en cuanto a las plantas de la familia *Parastrephia*, dado que no se encontró bibliografía respecto a los rendimientos de extracción de AEs por destilación vapor-agua de estas. Esto permitiría utilizarlos como referencia para futuras investigaciones.

Como el rendimiento es afectado por muchos factores, se recomienda documentarlo al implementar el proceso, para poder determinar los valores al escalar la producción a un mayor nivel y también identificar posibles factores que mejoran el rendimiento.

Para optimizar el proceso, se vuelve de interés estudiar el rendimiento de extracción de AE en diferentes condiciones, cambiando la relación entre flujos, el tiempo de secado del MV o de la etapa de extracción, la época de cosecha, la escala de producción, entre otros. Esto permite conocer los parámetros que maximizan la producción, obteniendo un proceso más eficiente.

4.2. Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se midió a través del método de difusión de disco, posicionando un disco impregnado con AE o antibiótico al centro de una placa petri inoculada con un microorganismo (antes de ser incubado), en este caso *E. coli*. El experimento se realizó en triplicados para las 3 especies y el control positivo (ampicilina). A continuación se muestran los resultados obtenidos en estos triplicados. Se obtuvo el valor y promedio de los radios de los halos antibacterianos generados alrededor del disco.

En la Figura 4.1, se encuentran los resultados del antibiograma para *P. lepidophylla*. Los diámetros obtenidos y el promedio de estos se encuentran en la Tabla 4.3.

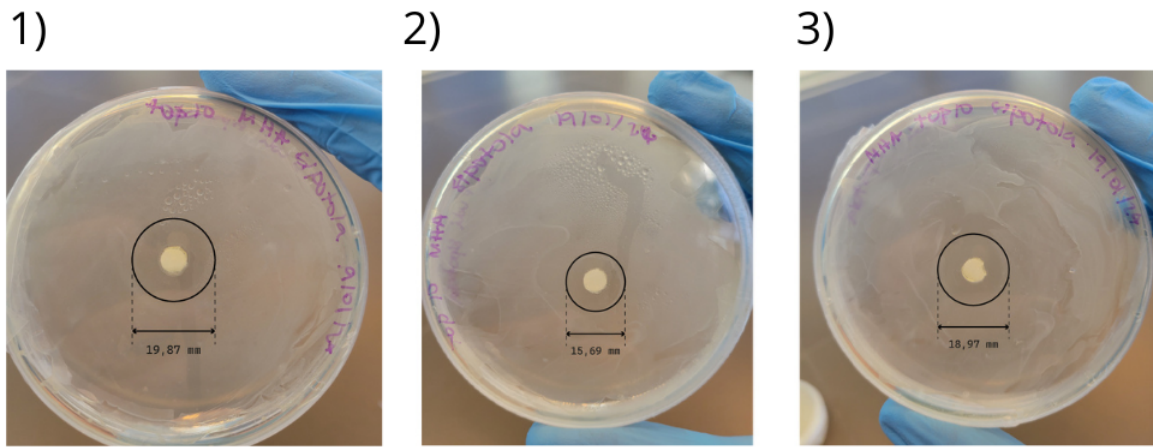


Figura 4.1: Antibiograma por triplicado de *P. lepidophylla*, con los diámetros de sus halos de inhibición de crecimiento bacteriano respectivos.

Tabla 4.3: Diámetros de halo antibacteriano generados por *P. lepidophylla*

Muestra	Diámetro [mm]
1	19,87
2	15,69
3	18,97
Promedio	18,18

Los resultados para *S. nutans* se pueden observar en la Figura 4.2. Los diámetros obtenidos y el promedio de estos se encuentran en la Tabla 4.4.

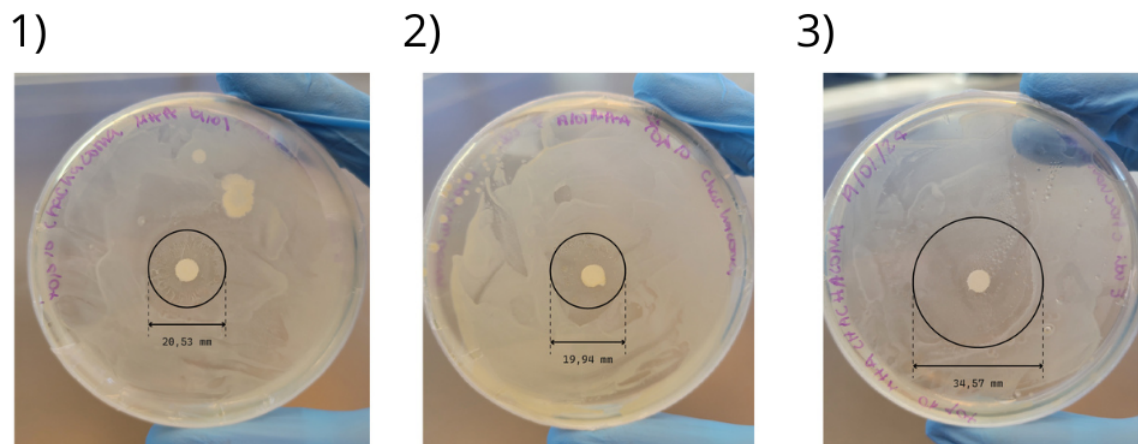


Figura 4.2: Antibiograma por triplicado de *S. nutans*, con los diámetros de sus halos de inhibición de crecimiento bacteriano respectivos.

Tabla 4.4: Diámetros de halo antibacteriano generados por *S. nutans*.

Muestra	Diámetro [mm]
1	20,53
2	19,94
3	34,57
Promedio	25,01

El control positivo se realizó con ampicilina para comparar la actividad antibacteriana de las plantas con la del antibiótico. Los resultados se muestran en la Figura 4.3. Los diámetros obtenidos y el promedio de estos se encuentran en la Tabla 4.5. En uno de los triplicados no se obtuvo una zona circular regular, por lo que no fue considerado su radio. Este puede encontrarse en el anexo B.1.

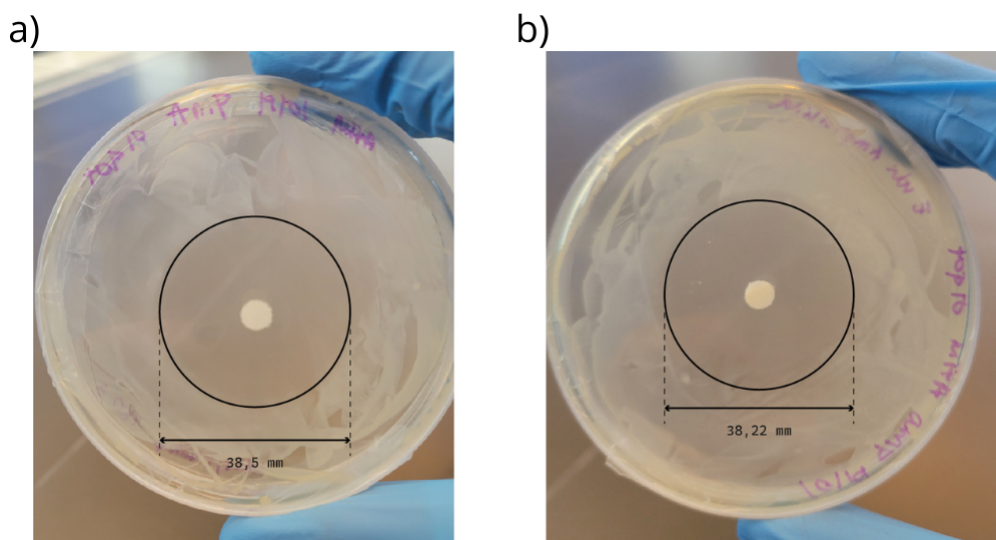


Figura 4.3: Control positivo con Ampicilina (duplicado), con los diámetros de sus halos de inhibición de crecimiento bacteriano respectivos.

Tabla 4.5: Radios de halo antibacteriano generados por el antibiótico Ampicilina.

Muestra	Radio [mm]
1	38,50
2	38,22
Promedio	38,36

La mayor actividad antibacteriana fue mostrada por *S. nutans*, con uno de sus resultados cercano al de la ampicilina. Este resultado es similar al obtenido en bibliografía, donde se ha demostrado actividad antibacteriana contra bacterias *Gram+* y *Gram-*, generalmente

mayor a otras especies y menor a antibióticos.

Los resultados de *P. lepidophylla* son menores, pero aún así demuestra una actividad antibacteriana moderada. Se ha estudiado esta propiedad contra bacterias *Gram+* y *Gram-*, demostrando efectividad alta contra las primeras y moderada contra las segundas. Esto se ve confirmado por los resultados obtenidos en este trabajo.

Los resultados del antibiograma para *P. lucida* se encuentran en la Figura 4.4. Se muestra solo uno de los triplicados debido a que en los otros 2 la actividad antibacteriana fue mínima y por lo tanto, los resultados no se consideraron. De todas formas, estos se encuentran en el anexo B.1. La muestra que sí mostró actividad antibacteriana generó un radio de halo de 18,9 [mm]. Esta especie demostró un bajo nivel de acción antibacteriana, siendo la menor de las 3 especies. En la bibliografía encontrada, se ha demostrado una actividad antibacteriana moderada a alta, pero solo contra bacterias *Gram+*. En este caso se utilizó *E. coli*, que es *Gram-*, por lo que no se tienen datos de comparación, pero en este caso demostró baja a nula efectividad.

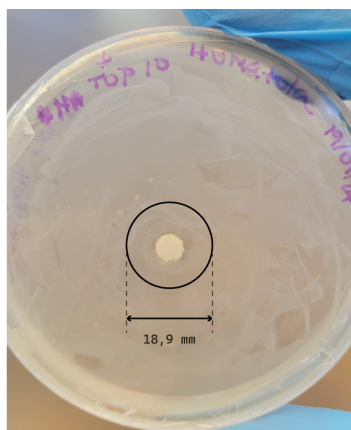


Figura 4.4: Antibiograma de *P. lucida*, con su diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano respectivo

Con respecto a la metodología utilizada, el método de difusión de disco se eligió debido a que es uno de los más utilizados y es un primer acercamiento a la medición de esta propiedad. Sin embargo, para conocer mejor los alcances de la acción antimicrobiana de estas especies se debe estudiar el efecto contra distintas cepas de microorganismos. Además, sería de interés, para futuras investigaciones, estudiar la composición de los AEs y poder aislar componentes que tengan mayor actividad antibacteriana. De encontrar compuestos con altos niveles de efectividad, estos podrían ser utilizados para desarrollar nuevos fármacos.

4.3. Actividad antioxidante

Para determinar la cantidad antioxidante se calculó el porcentaje de inhibición del radical DPPH• para concentraciones de 200, 400, 600, 800 y 1000 [ppm] de cada uno de los AEs. Los resultados se muestran en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6: Porcentaje de inhibición del radical DPPH• de las 3 especies en estudio.

Especie	Concentración [ppm]	% de Inhibición
<i>P. lepidophylla</i>	200	23 %
	400	22 %
	600	37 %
	800	41 %
	1000	44 %
<i>P. lucida</i>	200	6 %
	400	10 %
	600	10 %
	800	11 %
	1000	9 %
<i>S. nutans</i>	200	7 %
	400	6 %
	600	8 %
	800	13 %
	1000	11 %

La especie que mostró mayor actividad antioxidante fue *P. lepidophylla*. Para las especies *P. lucida* y *S. nutans* el mejor resultado se obtuvo a una concentración de 800 [ppm], aunque se esperaría que a mayor concentración se tenga mayor porcentaje de inhibición.

No existen estudios sobre la actividad antioxidante de los AEs de ninguna de estas plantas, por lo que no se pueden comparar los resultados obtenidos. Sin embargo, en la bibliografía consultada existen estudios a extractos o infusiones de estas especies que han demostrado esta propiedad.

Los resultados para *P. lucida* y *S. nutans* han sido prometedores y altos en comparación a otras especies, utilizando distintas metodologías (incluyendo la utilizada en este trabajo). *P. lepidophylla* ha demostrado resultados intermedios. Esto se contradice con los resultados obtenidos donde los porcentajes de inhibición fueron mayores para esta última especie que para las otras 2.

Se discute que los resultados para *P. lucida* y *S. nutans* fueron bajos, y esto podría deberse a que no son efectivos como antioxidantes contra el radical libre DPPH o a que efectivamente tienen menor función antioxidante. Con respecto a esto último, como otros tipos de extractos de estas especies sí han demostrado actividad antioxidante significativa, tiene más sentido la primera opción. Debido a esto, para futuros estudios se recomienda evaluar la actividad antioxidante por otros métodos para las 3 especies, para tener una noción más completa sobre esta propiedad.

Se decidió utilizar la metodología del radical DPPH debido a que esta es la más utilizada como primer acercamiento a la medición de esta propiedad. Suele ser la base para otros estudios con respecto a la actividad antioxidante.

En la Tabla 4.7 se encuentran los resultados para el valor IC50 (concentración que logra un porcentaje de inhibición del 50 %). Este se obtiene de la curva de los porcentajes de inhibición de las distintas concentraciones. El porcentaje de inhibición de *P. lepidophylla* es considerablemente bajo, lo que tiene sentido dado que demostró los mayores porcentajes de inhibición.

Las otras especies muestran valores más altos, lo que se explica debido a su menor porcentaje de inhibición y que los puntos de las curvas no siguen la tendencia. Es decir, que a mayor concentración de AE, no siempre se obtiene mayor porcentaje de inhibición. El resultado más bajo fue para *P. lucida*, que había demostrado la menor actividad antioxidante.

Debido a que la curva es realizada solo con 5 puntos de concentración, se recomienda, para futuras investigaciones, realizar una curva con mayor número de puntos para que este resultado sea más confiable.

Tabla 4.7: Valor IC50 para las 3 especies en estudio

Especie	IC50 [ppm]
<i>P. lepidophylla</i>	1.140
<i>P. lucida</i>	12.087
<i>S. nutans</i>	6.028

Finalmente, se evaluaron los equivalentes de Trolox, que para las 3 especies son bajos en comparación a la bibliografía. Los resultados son cercanos a 1 equivalente de Trolox, como se puede apreciar en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8: Capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) de las 3 especies en estudio

Especie	Concentración	Trolox Eq
	[ppm]	[uM]
<i>P. lepidophylla</i>	200	0,81
	400	0,83
	600	0,66
	800	0,61
	1000	0,58
<i>P. lucida</i>	200	1,06
	400	0,96
	600	0,96
	800	0,95
	1000	0,97
<i>S. nutans</i>	200	0,99
	400	1,01
	600	0,98
	800	0,93
	1000	0,95

Las especies demuestran resultados similares en cuanto a los equivalentes a Trolox, siendo la mayoría de los valores cercanos a 1. En las bibliografías consultadas, este valor suele ser considerablemente mayor, con valores en los cientos de equivalentes de Trolox. Sin embargo, la comparación con valores de bibliografía se dificulta debido a que estos valores pueden ser expresados con respecto al volumen de muestra de AE (como en este caso), o con respecto a la masa de muestra de AE o de MV. Esto hace imposible la comparación directa con la mayoría de los estudios revisados.

Es importante notar que se obtienen resultados distintos en cuanto a la eficacia demostrada al comparar los equivalentes de Trolox con el porcentaje de inhibición. En principio, se cree que para evitar esto, en futuras iteraciones del estudio las curvas de las muestras y estándar deben tener más puntos (concentraciones), para que la ecuación de la recta sea más confiable. En este trabajo, los valores de confianza de las curvas eran bajos, lo que hace que estos resultados no sean idóneos.

Así, el resultado más relevante se vuelve el porcentaje de inhibición, que indica que *P. lepidophylla* es la única con actividad antioxidante significativa. ún así, para concluir la mayor actividad de una especie sobre otra, se debería medir a través de más pruebas. Según la composición química de un AE, este puede actuar como antioxidante de una o varias maneras. En el método utilizado se evalúa solo la acción contra el radical DPPH, pero podrían tener mayor actividad contra otros tipos de agentes oxidantes.

Se discute que se deben utilizar otras metodologías para obtener conclusiones relevantes sobre la actividad antioxidante de las plantas. Esto podría llevar a utilizar el AE como parte

de productos cosméticos o extractos para fármacos. Es relevante incluir pruebas distintas en futuras investigaciones, para conocer la actividad antioxidante con mayor profundidad. Los AEs podrían actuar de manera diferente contra otras fuentes de oxidación, dependiendo del tipo de acción antioxidante que posean.

4.4. Discusiones generales resultados experimentales

Luego de haber estudiado el rendimiento y las propiedades antibacteriana y antioxidante de los AEs de *P. lepidophylla*, *lucida* y *S. nutans* y además de las discusiones realizadas en cada apartado de este capítulo, en esta sección se discuten algunos puntos sobre el trabajo experimental general.

El estudio de los AEs es un tema que ha sido de interés científico y social durante mucho tiempo. Las propiedades que poseen pueden ser aplicadas por diferentes industrias y contienen componentes que pueden utilizarse en fármacos, además de tener usos en aromaterapia o como saborizantes.

El trabajo realizado es preliminar y un acercamiento a la evaluación de estas propiedades, acorde a los objetivos de este proyecto. Para un conocimiento más completo, se deben realizar otras pruebas que midan ambas propiedades, utilizando distintas metodologías (como el método del radical ABTS para la actividad antioxidante) y/o cambiando algunos factores en las utilizadas (por ejemplo, utilizar otros microorganismos para medir la actividad antibacteriana). El futuro estudio de las propiedades evaluadas en este informe puede llevar a descubrimientos científicos de utilidad y relevancia.

Muchas de las propiedades biológicas de los AEs son evaluadas con pruebas *in vivo* en animales. Estas no podían ser llevadas a cabo en este trabajo, dado que deben realizarse por personal capacitado en laboratorios del área de salud. Sin embargo, sería de interés investigarlas, dado que esto puede corroborar la función que cumplen en los usos tradicionales que se les dan (para el dolor o inflamación, por ejemplo).

También se recomienda hacer más estudios a los AEs, como su caracterización física y química, analizando sus densidades, calorimetría, composición, etc. Como las plantas crecen en un lugar remoto y de difícil acceso, han sido poco estudiadas, por lo que la información descrita no se encuentra disponible. Estudiar los AEs que producen entrega información nueva sobre las especies, y puede generar conocimientos con un impacto relevante.

Conocimientos sobre otras propiedades del AE pueden llevar a su aplicación en insecticidas, cosméticos, fármacos, entre otros. Además, al poder probar y certificar propiedades medicinales o beneficios cosméticos, estos podrían ser comercializados legalmente para otros usos además de la aromaterapia.

Finalmente, con respecto al proceso, para futuras investigaciones se recomienda investigar los niveles de producción al comparar distintas metodologías de extracción y las diferencias entre los AEs obtenidos, para poder obtener mejores rendimientos y optimizar los recursos.

Capítulo 5

Diseño del Proceso

En esta sección se expone el proceso diseñado, siempre con el objetivo de que pueda ser aplicado por la comunidad Aymara de Tacora. Para esto, se define un caso base, se deciden las operaciones del proceso, se hacen balances de masa y energía y se selecciona tecnología adecuada. Finalmente se hace un análisis económico. Cada sección incluye los resultados del diseño y las discusiones sobre los mismos.

5.1. Caso base

5.1.1. Resultados

Para definir el caso base del proceso, se realizó una estimación de la cantidad de materia prima que los miembros de la comunidad de Tacora podrían recolectar de manera sostenible. Para esto se tomaron distintos supuestos y se realizaron una serie de cálculos expuestos a continuación, basado en la bibliografía disponible respecto a las 3 especies de interés. Con la cantidad que puede extraerse de cada planta de forma sostenible, se decidió un volumen acorde a la capacidad de producción de la comunidad. El caso base es distinto para cada especie, considerando su distribución y características específicas.

El distrito de Tacora posee una superficie de 213.600 hectáreas. En la comuna General Lagos, las tierras pertenecientes a la comunidad Aymara (o miembros de esta) representan el 95 % de la comuna [93, 94].

Así, tomando como supuesto que la distribución de la comuna puede ser aplicada al distrito, se tiene una cantidad de 202.350 hectáreas pertenecientes a la comunidad Aymara como se ve en la ecuación 5.1.

$$213.600[ha] \cdot 95 \% = 202.350[ha] \quad (5.1)$$

La flora de esta zona geográfica ha sido poco estudiada en cuanto a características específicas de las especies, sin embargo si se sabe que las 3 especies de interés se catalogan como no amenazadas en su categoría UICN [95].

En la zona donde está Tacora se pueden encontrar 3 clasificaciones distintas de matorral bajo tropical andino y en todos crecen las 3 especies de interés [96], por lo que se toma como supuesto una distribución homogénea de las plantas.

Estudios de estas plantas en otras zonas con similares condiciones geográficas, establecieron la cantidad de individuos por hectárea para las especies de interés del género *Parastrephia*. Estas fueron de 3543 y 1755 individuos por hectárea para *P. lepidophylla* y *P. lucida*, respectivamente [97, 98]. Para *S. nutans* no se encontró este dato en la bibliografía disponible, pero si que su cobertura vegetal (espacio que ocupa la especie en una zona geográfica) era de un 1,9 % cuando el de *P. lepidophylla* era de un 5,0 % [98]. Además, se tiene que la cobertura de *S. nutans* era de un 0.45 % cuando la de *P. lucida* era de 0.66 % [98]. Con estas relaciones y la cantidad de individuos de las especies *Parastrephia*, se estimó un promedio de 1254.4 individuos por hectárea para *S. nutans*.

Se toma en consideración que la recolección debe ser en individuos adultos (según la cultura de recolección Aymara y prácticas de recolección silvestre sostenible), por lo que se toma como supuesto que el 68 % de los individuos de las 3 especies es mediano o grande, según datos obtenidos de la especie *P. lepidophylla*[17]. Otros arbustos leñosos tuvieron porcentajes similares, por lo que se considera correcto aplicar este porcentaje para las 3 especies, quedando los valores expuestos en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1: Individuos totales (IT) y disponibles (ID) para recolección de las 3 especies de estudio.

Especie	IT por hectárea	ID por hectárea
<i>P. lepidophylla</i>	3453	2348
<i>P. lucida</i>	1755	1193
<i>S. Nutans</i>	1254	853

Para plantear el caso base se calcula la masa disponible para recolección. Se tiene información sobre la masa promedio de individuos grandes y medianos de las especies *P. lepidophylla* y *P. lucida* siendo de 1,6 y 0,4 kilogramos por individuo respectivamente [17]. No se encontró información disponible sobre *S. nutans*, pero dado que tiene la mitad de tamaño que *P. lucida*, se consideró la mitad de peso de la misma, estimando una masa de 0,2 kilogramos por individuo. Estas masas son equivalentes a la masa aérea de las especies (sin considerar raíces). Con esto, se calcula la masa disponible para recolectar por hectárea de cada especie.

El AE de estas plantas se encontrará principalmente en sus hojas debido a su naturaleza arbustiva. En estudios realizados a *P. lepidophylla* se encontró que las hojas y ramas tiernas correspondían al 16,48 % de la masa aérea de la especie [97]. A falta de información sobre las otras especies, se asume el mismo porcentaje para las 3. Con estos cálculos se obtienen los valores expuestos en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2: Masa total (MT) y de hojas (MH) disponible para recolección de las 3 especies de estudio.

Especie	MT disponible [kg/ha]	MH disponible [kg/ha]
<i>P. lepidophylla</i>	3838,65	632,75
<i>P. lucida</i>	470,97	77,63
<i>S. Nutans</i>	168,31	27,74

Debido a que existen estaciones donde es mejor el rendimiento de AE, se plantea que la recolección se haga en este periodo del año. Los arbustos leñosos, como son las 3 especies que se estudian en este trabajo suelen tener un crecimiento de 7 a 10 centímetros por año[97]. Para asegurar una recolección sostenible, es necesario podar las ramas de manera que puedan volver a crecer, sin alterar la tasa de crecimiento del arbusto y cortando ramas con hojas de longitud menor o igual a 7 [cm], para asegurar que el recurso se regenere antes de una siguiente recolección [99].

De todas maneras, debido a que las especies tienen otros usos (alimento del ganado, leña, teñido de lanas, etc), y para asegurar que el proceso no genere un estrés en las poblaciones de plantas, se decide que la recolección considere sacar un 10 % del peso de hojas de cada individuo, y recolectar de un 15 % de los individuos. Este criterio se utiliza como una estimación, considerando las costumbres de la comunidad y la biodisponibilidad de las especies. En la Tabla 5.3 se puede observar la masa a recolectar de cada especie según estas consideraciones.

Tabla 5.3: Masa a recolectar por hectárea para las 3 especies en estudio

Especie	Masa a recolectar [kg/ha]
<i>P. lepidophylla</i>	9,49
<i>P. lucida</i>	1,16
<i>S. Nutans</i>	0,42

Finalmente, considerando la cantidad de miembros involucrados en el proyecto y el tiempo disponible, se estima que se puede cubrir un 1 % del terreno disponible, equivalente a 2023,5 hectáreas. Esto se evalúa tomando en cuenta la capacidad de recolección y de producción de la comunidad. Bajo este mismo criterio, y debido a que *P. lepidophylla* tiene mucha mayor masa a recolectar, se decide recolectar sólo un 15 % de esta. Así, el caso base para cada especie es el detallado en la Tabla 5.4.

Tabla 5.4: Caso base de recolección para las 3 especies en estudio

Especie	Masa a recolectar [ton/año]
<i>P. lepidophylla</i>	2,88
<i>P. lucida</i>	2,36
<i>S. Nutans</i>	0,84

Con esto se tiene una recolección total anual de 6,08 toneladas.

5.1.2. Discusiones

Para proponer este caso base se consideraron criterios que dieran lugar a una recolección sostenible de las plantas. Esto es importante desde el punto de vista ingenieril debido a que es necesario generar los menores impactos negativos al ambiente posible, para que la disponibilidad de los recursos no se vea afectada en el largo plazo. Además, es importante para la comunidad Aymara, debido a que dentro de su cosmovisión, parte importante es la relación con la naturaleza y el cuidado y uso responsable de la misma.

Los parámetros considerados se basan en supuestos y en otros estudios, por lo que sería necesario estudiar el impacto real una vez implementado el proyecto. Sin embargo, debido a que se considera una baja capacidad por parte de la comunidad para la recolección, se recolecta una cantidad mucho menor que lo establecido como sostenible, por lo que el proceso no debería tener mayor impacto en las poblaciones de las especies.

El método de recolección propuesto es coherente con las prácticas culturales Aymara y evita un impacto ambiental negativo. Esto también refleja un modelo sostenible que puede ser replicado en otras áreas. El caso base se adecua a las características específicas de las especies en estudio y la capacidad de trabajo de la comunidad, pero puede ser adaptado para contextos similares.

Se sugiere un estudio más detallado de las características de las plantas y las condiciones de operación del proceso, para optimizar la producción. También se recomienda implementar un sistema de monitoreo continuo, que ayudará a medir y reducir el impacto en el ecosistema.

5.2. Bases de diseño

Para el diseño de la extracción de AEs a partir de las plantas nativas *P. lepidophylla*, *P. lucida* y *S. nutans* provenientes de la región de Arica y Parinacota para la comunidad Aymara de Tacora, se adoptaron ciertas bases que rigen el proyecto y que consideran aspectos logísticos y operacionales. Estas corresponden a:

5.2.1. Bases de diseño

- Para la producción de AEs se utilizan las plantas recolectadas *P. lepidophylla*, *P. lucida* y *S. nutans* provenientes de la región de Arica y Parinacota.
- Se apunta a un método de extracción que sea seguro, sencillo y accesible para la comunidad Aymara de Tacora, que evite la necesidad de personal especialmente capacitado para la operación del proceso.
- Se considera la disponibilidad de recursos locales y materiales fácilmente accesibles.
- Se priorizan técnicas de extracción que no requieran equipo muy especializado o costoso.
- Costos de implementación y operación bajos, que eviten que la comunidad deba incurrir en gastos adicionales desproporcionados en relación con los beneficios obtenidos.
- Respetar los conocimientos tradicionales de la comunidad Aymara en el manejo de plantas medicinales y en la concepción, desarrollo e implementación del proceso.
- Se determina el procesamiento de una masa de 2,88; 2,36 y 0,84 toneladas por año para *P. lepidophylla*, *P. lucida* y *S. nutans*, respectivamente.
- La obtención de materia prima será a través de la recolección por parte de integrantes de la comunidad interesados en la extracción de AEs de dichas plantas.
- El periodo de producción se contempla por 3 meses al año, funcionando 6 días de la semana durante 12 horas diarias, supervisada por 2 trabajadores en turnos de 3 o 6 horas.

5.2.2. Límites de batería

El proyecto contempla el diseño del proceso de extracción de AEs a partir de las plantas nativas *P. lepidophylla*, *P. lucida* y *S. nutans*, provenientes de la región de Arica y Parinacota para la comunidad Aymara de Tacora mediante el método de extracción de destilación vapor-agua, abarcando desde el diseño y la selección de procesos y de equipos para la extracción, incluyendo un análisis económico del proyecto. Sin embargo, existen algunos límites que corresponden a:

- No se considera el proceso de distribución del AE extraído.
- El proyecto no contempla pruebas de laboratorio detalladas para analizar la composición química exacta de los aceites esenciales extraídos.

- Se excluyen técnicas de extracción que impliquen el uso de productos químicos peligrosos o contaminantes.
- Se considera un proceso productivo que abarca desde el proceso de secado de las plantas *P. lepidophylla*, *P. lucida* y *S. nutans* recolectadas hasta el envasado de los productos, es decir, AEs. El AE resultante estará listo para consumo, distribución y venta.
- El análisis de sustentabilidad ambiental y social no se incluye dentro del alcance del diseño del proceso, enfocándose en la viabilidad técnica, económica y cultural.

5.2.3. Alcances de los servicios

- No se contempla la expansión del proyecto a otras comunidades o regiones. El alcance del proyecto se limita a la comunidad Aymara de Tacora y no se planea su replicación en otras comunidades o regiones. Esto permite enfocar los recursos disponibles en satisfacer las necesidades locales de manera efectiva.
- Identificación de las especies de plantas *P. lepidophylla*, *P. lucida* y *S. nutans* y sus partes que contienen los AEs deseados.
- Elaboración de un protocolo sencillo y comprensible para que los integrantes de la comunidad Aymara puedan realizar el proceso de extracción en sus hogares.
- Los resultados obtenidos corresponden a un análisis de prefactibilidad, por lo que los cálculos no son definitivos y probablemente difieran a los que se obtengan en etapas más avanzadas de la evaluación del proyecto.

5.3. Descripción del proceso

El proceso contempla 5 operaciones unitarias unitarias: recolección de la materia vegetal, secado de la materia vegetal, extracción del AE, separación del AE e hidrolato, y empaquetado y almacenamiento del AE. A continuación se encuentra el diagrama de flujos del proceso y la descripción de las operaciones unitarias. Para el análisis de estas se definen 3 etapas, preparación de la materia prima, extracción del AE y tratamiento del AE.

5.3.1. Diagrama de Flujos

En la Figura 5.1 se puede observar el diagrama de flujos del proceso, teniendo como entradas globales la materia prima vegetal (obtenida de la recolección) y el agua utilizada para la extracción. Como productos del proceso se tiene hidrolato y AE.

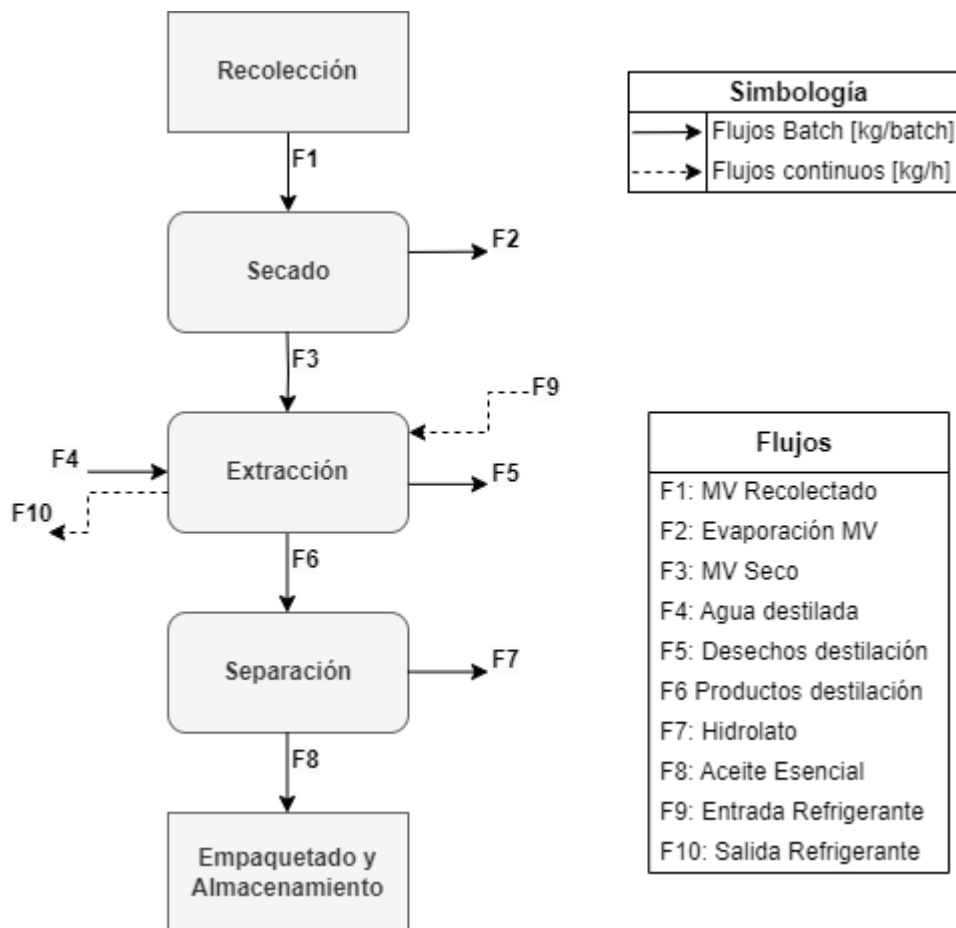


Figura 5.1: Diagrama de flujos del proceso de extracción de AEs (MV: materia vegetal) [Elaboración propia]

El proceso consta de 5 operaciones unitarias que son clasificadas en 3 etapas. En la primera etapa, preparación de la materia prima, se tienen las operaciones de recolección y secado del MV. Luego se tiene la etapa de extracción, con la operación unitaria del mismo nombre. Finalmente se tiene el tratamiento del AE, que abarca las operaciones de separación (del

hidrolato y el AE) y empaquetamiento y almacenamiento del AE.

En la operación de extracción se tienen los flujos F9 y F10 que corresponden al refrigerante utilizado para la condensación.

5.3.2. Preparación de la materia prima

Dentro de esta etapa se encuentran las operaciones unitarias de recolección y secado de la materia prima. El MV se debe recolectar en un periodo del año específico (con la información actual se define que este sea en otoño), recolectando ramas con hojas de cada arbusto, haciendo una poda selectiva que permita la regeneración de la planta, las ramas deben tener menos de 7 cm de longitud y se debe obtener de algunos individuos y sólo sacar un porcentaje de las hojas disponibles (los que fueron definidos en el caso base).

Luego de la recolección, el MV recolectado (F1) debe ser secado. Esto se debe llevar a cabo en ausencia de luz sobre superficies planas, durante al menos una semana. En esta operación unitaria se tiene una salida de agua (F2) correspondiente a la evaporación del contenido de humedad del MV. El MV seco (F3) ingresa a la etapa de extracción.

5.3.3. Extracción del AE

La extracción del AE se hará por destilación, debido a que es un método altamente utilizado en la producción industrial de AE, no requiere uso de solventes contaminantes, etapas posteriores de purificación, ni tampoco equipos costosos o con dificultad de operación. Dentro de los tipos de destilación, se decide utilizar la destilación vapor-agua, debido a que obtiene mejores rendimientos y menor exposición al calor que la hidrodestilación. Se descarta la destilación por arrastre de vapor debido a los requerimientos técnicos de un equipo semiindustrial. La extracción se realiza con agua destilada, utilizando 3 litros de agua por cada kilogramo de materia vegetal seca. Así, los flujos de entrada corresponden al materia vegetal seco (F3) y agua destilada (F4). De esta operación se obtiene un flujo de productos (F6), el cual contiene hidrolato y AE. Esta operación tiene una duración de 2 horas y luego de terminar, se debe vaciar el equipo de los restos de MV usado y agua que hayan dentro del equipo. Estos pueden utilizarse para hacer abono, como alimento del ganado o como combustible.

La destilación por arrastre de vapor se lleva a cabo en un destilador o alambique, que cuenta con condensador incluido. La condensación es clave para obtener un flujo de salida líquido y no perder AE. Como refrigerante se utilizará un flujo continuo de agua de pozo, la cual luego puede ser reutilizada para otros fines. Esto origina los flujos de entrada y salida de refrigerante (F9 y F10 respectivamente).

5.3.4. Tratamiento del AE

El tratamiento del AE comprende las etapas de separación y de empaquetado y almacenamiento. En estas el foco es obtener un producto de calidad que pueda ser comercializado efectivamente.

La separación del AE del hidrolato se hace de forma física por la diferencia de densidades de ambas fases. Los productos de la extracción se recolectan en un matraz con llave de paso, y debido a que el AE tiene menor densidad que el agua, queda en una capa o fase superior. Así, se puede extraer primero el hidrolato y luego el AE. Para obtener el producto puro, es de suma importancia que el AE no contenga hidrolato, es decir, se debe extraer todo el hidrolato del matraz antes de extraer el AE (aunque esto signifique perder cantidades mínimas de aceite). De esta operación entonces, se obtienen dos flujos, uno de hidrolato (F7) y otro con el AE (F8). El hidrolato puede ser utilizado como agua como fuente de agua no potable o comercializarse.

El AE debe ser empaquetado en frascos de vidrio tintado o ámbar para impedir la reacción de los AEs con la luz, con algún dispensador (puede ser gotero o dosificador) para facilitar su uso y con tapa para evitar la evaporación del producto volátil. De ser de interés, el hidrolato también puede empaquetarse para su comercialización. Finalmente, los frascos con AE deben ser almacenados en un lugar fresco y oscuro hasta su posterior venta. Usualmente, los AEs tienen una duración de 1 a 2 años desde su elaboración.

5.3.5. Discusiones

El proceso de extracción de AEs varía principalmente en el método utilizado para la extracción de AEs. Dentro de las metodologías revisadas en el marco teórico, se decide que la más adecuada es la destilación de vapor-agua. Esto debido a que es mejor que la hidrodestilación pero tiene los mismos requerimientos, que son bastante básicos. Otras metodologías utilizan productos nocivos, peligrosos y/o contaminantes, o necesitan de requerimientos técnicos como conexión estable a electricidad que no se encuentran en la zona de implementación.

Las entradas principales para el proceso de extracción incluyen agua de refrigeración y destilada, además del MV recolectado de manera sostenible, como se discutió en el caso base. El agua necesaria para el proceso se obtendrá de pozos subterráneos existentes en la región, garantizando un abastecimiento adecuado y minimizando la intervención ambiental.

Las salidas del proceso equivalen a MV usado con restos de agua destilada, agua evaporada del MV, agua de refrigeración e hidrolato, además del producto final (AE). Para minimizar el impacto ambiental, se recomienda reutilizar el agua de refrigeración, ya sea en el mismo proceso al hacerla circular continuamente o para otros usos (riego, ganado, en el hogar, etc). Los desechos de la destilación (MV usado con restos de agua destilada) pueden ser compostados y el abono resultante utilizado en huertas de la comunidad. El hidrolato podría ser comercializado, pero debido al gran nivel de producción se puede evaluar utilizar con otros fines (como por ejemplo riego) o como fuente de agua de refrigeración.

Implementar estas recomendaciones disminuye el impacto ambiental del proceso, utilizando menos agua y generando subproductos útiles a través de la revalorización de estos desechos.

Ninguna de la operaciones unitarias posee requerimientos técnicos mayores. Es necesario un espacio donde se puedan secar las plantas y se pueda llevar a cabo la destilación (pueden ser espacios separados o juntos mientras sea suficiente). Se considera como fuente de calor gas para no realizar una instalación eléctrica (debido al escaso acceso a electricidad en la zona).

Las tuberías de la condensación pueden ser mangueras plásticas y el destilador incluye la rejilla, el condensador y un termómetro interior.

Las operaciones no requieren de tecnología avanzada, facilitando su implementación en la comunidad. Será necesario disponer de un espacio adecuado para el secado de las plantas y la destilación, que podría configurarse en áreas combinadas o separadas según la disponibilidad. El uso de gas como fuente de calor es preferido sobre la electricidad, adaptándose a las limitaciones de infraestructura de la zona. Este debe ser transportado en balones desde Arica. Las instalaciones para la condensación pueden configurarse con materiales simples como mangueras plásticas, y el equipo de destilación incluye la rejilla, un condensador y un termómetro.

5.4. Balances de masa

Para llevar a cabo los balances de masa, se tomó en cuenta el caso base, se decidieron criterios en base a la capacidad de producción y se tomaron supuestos pertinentes debido a falta de información. Para cada subsección a continuación se muestra el detalle de los cálculos realizados para la especie *P. lepidophylla*, incluyendo los supuestos y parámetros utilizados. Además, se exponen los resultados para las 3 especies. Los cálculos son análogos para todas y el detalle para *P. lucida* y *S. nutans* se puede ver en el anexo C.1.

5.4.1. Balance de masa por etapa

A continuación se calculan los balances de masa para las etapas de secado, extracción y separación. Las otras dos operaciones unitarias son las que dan inicio y final al proceso de producción, teniendo solo un flujo, que se incluye dentro de los balances realizados.

5.4.1.1. Secado

Para el balance de masa del secado se utilizan los siguientes criterios y parámetros:

- Se toma como base de cálculo el flujo F3, la entrada de materia seca a la destilación, definiendo que cada batch o lote utilizará 25 kilogramos de MV seco.
- Se toma como supuesto que el MV seco tiene un porcentaje de humedad de 27,1 %. Esto se obtiene como el promedio de humedad de las especies *P. lepidophylla* y *P. lucida*, las cuales tienen valores similares entre sí y también a otras especies con características parecidas [17].

Los resultados del balance de masa se pueden ver en la Tabla 5.5. Dado que se asume el mismo nivel de humedad en las plantas, los resultados de este balance son los mismos para las 3 especies.

Tabla 5.5: Balance de masa de la operación de secado

Balance de Masa Secado					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F1	34,77	MV Seco	0,72	25,04	34,77
		Agua	0,28	9,74	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F2	9,77	Agua	1,00	9,77	34,77
F3	25,00	MV Seco	1,00	25,00	

5.4.1.2. Extracción

Para el balance de masa de la extracción se utilizan los siguientes criterios y parámetros:

- Se utiliza la base de cálculo fijada en la etapa anterior para F3, definiendo la entrada de materia seca a la destilación de 25 kilogramos por batch.
- La relación de los flujos F3 y F4 será de 3 litros de agua en F4 por cada kilogramo de MV seco en F3, según rangos normales para escala piloto. Se toma la densidad del agua como 0,997 [g/mL].
- Se utiliza el rendimiento obtenido experimentalmente para *P. lepidophylla*, el cuál es de 0,11 % (calculado como volumen de AE en [mL] por gramo de MV seco)
- Para las 3 plantas se utiliza la densidad del AE de *S. nutans* (a falta de información para las otras especies).
- Se estipula que el 10 % del agua proveniente de F4 se queda en el equipo (no se debe eliminar completamente). El resto se convierte en hidrolato.

En la Tabla 5.6 se tienen los resultados obtenidos para el balance de masa de la extracción del AE de *P. lepidophylla*.

Tabla 5.6: Balance de masa de la operación unitaria de extracción para *P. lepidophylla*

Balance de Masa Extracción					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F3	25,00	MV Seco	1,00	25,00	99,78
F4	74,78	Agua	1,00	74,78	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F5	32,45	MV Seco	0,77	24,98	99,78
		Agua	0,23	7,48	
F6	67,32	Hidrolato	0,9996	67,30	
		AE	0,0004	0,02	

Para el cálculo del balance de masa del refrigerante, es necesario hacer el balance de energía. Este se calcula en la sección 5.5, dando como resultado un flujo de agua de refrigerante de 11 litros por minuto, equivalente a 1318 kilogramos por lote.

Para las especies *P. lucida* y *S. nutans*, los rendimientos son 0,09 % y 0,53 %. Con esto, el único valor que cambia del balance es la producción de AE en F6 y la cantidad de desechos de MV seco en F5. Los resultados de estos valores para las 3 especies se encuentran resumidos en la Tabla 5.7 (las especies de cada flujo que no se mencionan se mantienen igual a las de la tabla anterior).

Tabla 5.7: Balance de masa para la operación unitaria de extracción para las 3 especies en estudio

Balance de masa Extracción				
	Flujo	Especie	Entrada [kg/batch]	Total [kg/batch]
	F3	MV Seco	25,00	25,00
Salida por especie	Flujo	Especie	Salida [kg/batch]	Total [kg/batch]
<i>P. lepidophylla</i>	F5	MV Seco	24,976	25,00
	F6	AE	0,024	
<i>P. lucida</i>	F5	MV Seco	24,981	25,00
	F6	AE	0,019	
<i>S. nutans</i>	F5	MV Seco	24,884	25,00
	F6	AE	0,116	

5.4.1.3. Separación

La operación de separación no utiliza criterios ni parámetros específicos, sino que solo se separan los productos de F6 en dos flujos (F7 y F8). Los resultados calculados para *P. lepidophylla* se observan en la Tabla 5.8.

Tabla 5.8: Balance de masa de la operación unitaria de separación para *P. lepidophylla*

Balance de Masa Separación					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F6	67,32	Hidrolato	0,9996	67,30	67,32
		AE	0,004	0,02	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F7	67,30	Hidrolato	1,00	67,30	67,32
F8	0,02	AE	1,00	0,02	

Los resultados de los 3 flujos de esta operación unitaria cambian según el rendimiento de la especie. A continuación en la Tabla 5.9 se exponen los resultados de producción de AE por especie.

Tabla 5.9: Balance de masa para la operación unitaria de separación para las 3 especies en estudio

Balance de masa Separación			
Especie	Flujo	Composición	Salida [kg/batch]
<i>P. lepidophylla</i>	F8	AE	0,024
<i>P. lucida</i>	F8	AE	0,019
<i>S. nutans</i>	F8	AE	0,116

5.4.2. Resumen balance de masa por lote

En la Tabla 5.10 se puede ver un resumen del balance de masa para la especie *P. lepidophylla*, que contiene cada flujo del diagrama y su composición por especie.

Tabla 5.10: Resumen de balance de masa por flujo y especie para *P. lepidophylla*, donde MVS: Material vegetal seco, AE: aceite esencial, AP: agua de pozo

Flujos	MVS	Agua	Hidrolato	AE	AP	Total [kg]
F1: MV recolectado	25,00	9,77	0	0	0	34,77
F2: Evaporación MV	0	9,77	0	0	0	9,77
F3: MV seco	25,00	0	0	0	0	25,00
F4: Agua Destilación	0	74,78	0	0	0	74,78
F5: Desechos destilación	24,98	7,48	0	0	0	32,45
F6: Productos Destilación	0	0	67,30	0,02	0	67,32
F7: Hidrolato	0	0	67,30	0	0	67,30
F8: Aceite Esencial	0	0	0	0,02	0	0,02
F9: Entrada Refrigerante	0	0	0	0	1318	1318
F10: Salida Refrigerante	0	0	0	0	1318	1318

5.4.3. Balance de masa anual

Utilizando los mismos parámetros y supuestos ya explicados, se realizó el cálculo del balance de masa global por año para las 3 especies. El detalle del cálculo para *P. lepidophylla* se puede observar en la Tabla 5.11.

Tabla 5.11: Balance de masa anual para *P. lepidophylla*

Balance de Masa Anual					
Flujo	Entrada [kg/año]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/año]
F1	2881	MV Seco	0,72	2071	9094
		Agua	0,28	810	
F4	6213	Agua	1,00	6213	
Flujo	Salida [kg/año]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/año]
F2	810	MV Seco	1,00	810	9094
F5	2690	MV Seco	0,77	2069	
		Agua	0,23	621	
F7	5592	Hidrolato	1,00	5592	
F8	2	AE	1,00	2	

En la Tabla 5.12 se calcula la producción de AE para cada especie, según su caso base de recolección y rendimiento específico.

Tabla 5.12: Producción anual de AE para las 3 especies de estudio.

Especie	Rendimiento	Caso Base [kg/año]	Producción AE [kg/año]
<i>P. lepidophylla</i>	0,11 %	2881	2,01
<i>P. lucida</i>	0,09 %	2356	1,26
<i>S. nutans</i>	0,53 %	842	2,81
	Total	6079	6,08

5.4.4. Producción anual por especie

Los AEs pueden usualmente ser encontrados en el mercado en formato de frascos de 5 [mL], por lo que se calculó el volumen que se producirá y la cantidad de frascos por especie que se pueden obtener de manera anual. Estos resultados se muestran en la Tabla 5.13.

Tabla 5.13: Producción anual de frascos de AE para las 3 especies de estudio.

Especie	Producción AE [kg]	Volumen AE [L]	Frascos
<i>P. lepidophylla</i>	2,01	2,30	460
<i>P. lucida</i>	1,26	1,44	288
<i>S. nutans</i>	2,81	3,22	643
Total	6,08	6,96	1391

5.4.5. Discusiones balance de masa

Al realizar los balances de masa se consideró hacer balances por etapa para los cálculos de cada batch y un balance global para el cálculo de producción anual. Con esto se obtuvieron los flujos que se necesitan de materias primas y los niveles de producción.

Una vez establecido un valor de 25 [kg] como caso base (F3), se calculan los flujos de masa de cada etapa. Para cada batch se necesitan, aproximadamente, 35 [kg] de MV fresco, 75 [kg] de agua destilada y 1318 [kg] de agua para refrigerante (valor obtenido de los balances de energía). Este último valor es el más significativo, pero no tiene un costo asociado debido a la fuente del agua de pozo y además como puede ser reutilizada (en el proceso o con otros fines) disminuye el impacto ambiental de la operación de condensación.

Los desechos del proceso son el MV usado con restos de agua destilada, con valores de 25 [kg/batch] y 9,8 [kg/batch], respectivamente. Estos, como fue sugerido anteriormente, pueden ser compostados o utilizados con otros fines, para no generar una acumulación de desechos en la zona.

Los productos son AE e hidrolato, con una producción que varía entre los 20 y 120 gramos para el primero (dependiendo de la especie). El hidrolato producido es de aproximadamente 67 [kg] para las 3 especies. Si bien la producción de AE es baja, esto es esperable con los rendimientos obtenidos. Se recomienda llevar registro de los rendimientos que se obtengan para poder optimizar el proceso.

El flujo de hidrolato es significativo por lo que se podría comercializar. Para futuras investigaciones sería de interés estudiar la factibilidad económica y técnica de la comercialización de este producto. Además, se podrían estudiar de igual manera las propiedades que posee. Sería necesario conocer las características y concentración del hidrolato, o realizar un segundo proceso de separación para concentrarlo un poco más y poder vender un producto de calidad. Esto significaría una nueva fuente de ingresos con el mismo proceso y por lo tanto los mismos gastos.

Se decidió diseñar un proceso que puede ser clasificado en escala banca o piloto. Es un proceso artesanal con niveles medios de producción. La decisión del caso base para los balances de masa por etapa se desprende del caso base anual. La operación de la planta es durante una estación al año (se consideraron 13 semanas), por lo que se debe procesar una cantidad mínima de MV diario para lograr el caso base anual.

Desde el balance de masa anual, se obtiene que se producen aproximadamente 6 [kg] de AE en total, con la menor producción en *P. lucida* (Humatola), que era esperable debido a su menor rendimiento y baja biodisponibilidad.

Se decide que el formato de comercialización sea en frascos de 5 [mL] y la producción anual es de 1391 frascos de AE, que podrá ser comercializado por los miembros de la comunidad.

5.5. Balance de energía

5.5.1. Resultados

La principal importancia del balance de energía en este proceso se asocia a los gastos asociados, debido a que el acceso a fuentes de energía en Tacora es escaso. La única etapa del proceso que utiliza energía es la destilación, para calentar y vaporizar el agua y obtener AE. En esta etapa también se necesita un flujo de refrigerante. A continuación se muestran los principales supuestos y resultados del balance realizado. Los detalles de los cálculos realizados y las simplificaciones consideradas se encuentran en el anexo C.2.

Para poder calcular el calor necesario para los cambios de temperatura y estado, se utilizan los datos expuestos en la Tabla 5.14. El calor específico del agua fue tomado como un promedio del valor para las temperaturas iniciales y finales [100]. Para el calor específico del MV seco se utilizó el valor más alto obtenido en un estudio a distintas biomásas [101]. El calor latente del MV fue obtenido a partir del promedio de los calores latentes de AEs con composiciones similares a los de este estudio [102].

Tabla 5.14: Valores utilizados para el balance de energía

Parámetro	Valor	Unidad	Referencia
Temperatura inicial	293,15	[°K]	Criterio Propio
Temperatura final	373,15	[°K]	[36]
Calor específico Agua	4,20	[kJ/kg°K]	[100]
Calor específico MV seco	2,00	[kJ/kg°K]	[101]
Calor latente Agua	2,26	[kJ/kg]	[100]
Calor latente AE	258,19	[kJ/kg]	[102]

Se calculó la energía necesaria para la operación y las pérdidas del calor al ambiente, además se considera que la eficiencia de la transferencia de calor de la fuente de calor al destilador es de un 90 % [103]. Así, el calor total que requiere el proceso ($Q_{proceso}$) y el que se debe entregar por parte de la fuente de calor (Q_{fuente}) se expresan en 5.2.

$$\begin{aligned} Q_{proceso} &= 181.290,62[kJ] \\ Q_{fuente} &= \frac{Q_{proceso}}{0,9} = 201.434,02[kJ] \end{aligned} \tag{5.2}$$

El flujo de refrigerante (que fue expuesto pero no calculado en la sección anterior) se calculó imponiendo que la temperatura final del refrigerante sea igual a la de F6 (50 [°C]) y la de entrada de 20 [°C], y se toma como supuesto que el hidrolato se comporta como el agua (dado que lo compone casi totalmente). Con esto se tiene que el flujo de refrigerante necesario es de 11 litros por minuto, equivalente a 1318 kilogramos por lote.

5.5.2. Discusiones

Para realizar el balance de energía se decidió hacer cálculos simplificados. Esto es debido a dos razones. Por un lado, el balance de energía es necesario para calcular el gasto energético del proceso y así calcular los gastos operacionales de la planta. Esto puede ser calculado de manera simple, sobrestimando el gasto energético para no generar problemas, siendo innecesario diseñar un modelo más complejo. Por otro lado, existe poca información disponible sobre este tipo de proceso y sobre las especies de estudio, lo que imposibilita realizar un buen análisis. Los modelos de procesos suelen utilizar datos obtenidos empíricamente, y a falta de estos se hubiera tenido que utilizar una gran cantidad de supuestos.

Así, se calcula la energía necesaria para calentar y/o evaporar las sustancias (MV seco, agua destilada y AE), según corresponda. Para tener un modelo preciso del proceso, se deben realizar balances de masa y energía que consideren la velocidad de transferencia de masa y de calor en las distintas partes del sistema.

Dentro de las simplificaciones tomadas, está que la transferencia de AE desde el MV al vapor es constante con respecto al tiempo (y por lo tanto la producción). Esto no es así, dado que al inicio no hay vapor y la mayor obtención de AE se genera luego de que el agua llega a la temperatura de operación. Sin embargo, el rendimiento final debería ser el mismo, influyendo más el factor de escalar el proceso que la transferencia de masa del AE.

De la misma manera, se consideró que el flujo de hidrolato es constante con respecto al tiempo, pero esto tampoco es así debido a que en un principio se evapora menor cantidad de agua por estar a bajas temperaturas. Estos supuestos no deberían influir significativamente en la estimación del gasto energético del proceso, pero podrían servir si se quiere optimizar la extracción del AE.

Para hacer esto, sería necesario diseñar un modelo que considere los factores antes mencionados, además de la información recolectada luego de la implementación del proceso. Esto puede permitir adaptar algunos aspectos del proceso, como la relación entre los flujos de entrada, la temperatura y tiempo de operación, el tiempo de secado, entre otros parámetros, que permitan obtener mayor cantidad de AE. Esto puede ser abarcado en futuras investigaciones, una vez se tenga información sobre los resultados reales del proceso.

El mayor gasto energético viene dado de la vaporización de agua, que para metodologías de destilación con agua es necesario. Se recomienda evaluar los rendimientos al aumentar o disminuir la relación entre los flujos de agua destilada y MV seco, para poder reducir el volumen de agua utilizado si fuera conveniente.

Como fue mencionado anteriormente, se decidió utilizar la metodología de destilación vapor agua debido a sus bajos requerimientos técnicos. Aún así, sería de interés evaluar como alternativa a el proceso diseñado en este trabajo, utilizar destilación por arrastre de vapor. Para esto se necesitaría un generador y un equipo de destilación compatible con el mismo. La destilación por arrastre de vapor suele ser más eficiente en cuanto a energía y producción, pero el equipo tiene mayores requerimientos técnicos.

El flujo de agua de refrigeración es alto en relación al resto de los flujos del proceso pero como puede ser recirculada o reutilizada con otros fines, no debería generar un impacto significativo (ambiental o económico). El flujo de agua necesario también fue calculado de manera simplificada, lo que se justifica con lo recién mencionado, porque el nivel del flujo no impacta los resultados del proceso. Igual que con el balance de energía anterior, se calcula el calor necesario para el cambio de estado y temperatura del flujo de salida.

Los valores reales de este balance dependerán del diseño de las características del condensador (dimensiones y disposición) y la consecuente área de transferencia de calor.

Con respecto a la fuente de calor utilizada, se discute que para futuras investigaciones se debe evaluar el uso de energías renovables, para disminuir el impacto ambiental del proceso. La obtención de energía a partir de biomasa, o el uso de energía solar o energía eólica, deben ser evaluados. Fueron descartados en esta investigación debido al costo de inversión que requiere implementarlos y se optó por gas licuado debido a que el acceso a este puede ser inmediato. No obstante, el uso de este y el transporte de los balones, generan gastos económicos y emisiones de gases efecto invernadero, que impactan negativamente al ambiente. Se recomienda evaluar la opción de postular a fondos para instalar fuentes de energía renovable, y así reducir los costos e impactos del proyecto.

5.6. Dimensionamiento y selección de tecnología

5.6.1. Resultados

El único equipo necesario en el proceso es el destilador. Para elegir un equipo adecuado, se debe calcular la capacidad volumétrica necesaria del mismo. El dimensionamiento de este parámetro se calculó con el volumen de agua y una estimación del volumen ocupado por la materia prima.

La densidad del MV fue obtenida de un proceso de extracción de AEs a otras especies, siendo de 310 [kg/m³]. En un batch se utilizan 25 [kg] de material vegetal y 75 [L] de agua, como fue expuesto en la sección 5.4 Así, se obtienen los resultados expuestos en la Tabla 5.15.

Tabla 5.15: Volumen de las especies utilizadas en la destilación.

Volumen [L]	
Agua	75,00
MV seco	80,65
Total	155,65

Se define que un 10% del equipo debe estar vacío, dado que el MV debe estar por sobre el nivel del agua y compactar el lecho de MV puede disminuir el rendimiento. Además, se considera un factor de seguridad del 10%, considerando que la densidad de las plantas podría ser menor (utilizando más espacio). Así, se obtienen los valores expuestos en la ecuación 5.3

$$\begin{aligned}V_{destilador} &= (V_{MP} + V_{MP} \cdot \frac{15}{85}) \cdot 1,1[L] \\V_{destilador} &= (155,65 + 155,65 \cdot \frac{15}{85}) \cdot 1,1[L] \\V_{destilador} &= 201,42[L]\end{aligned}\tag{5.3}$$

Se considera una relación entre diámetro y altura de 1:5, según parámetros generales [36]. Con esto se obtienen las dimensiones descritas en la Tabla 5.16. Aún así, dado que el equipo se compra del retail, al elegirlo la dimensión relevante es el volumen. Por esto y según las opciones disponibles en el mercado, se decide utilizar un destilador con capacidad de 200 [L], como el mostrado en la Figura 5.2.



Figura 5.2: Alambique de 200 [L] [104]

Tabla 5.16: Dimensiones del destilador

Parámetro	Valor	Unidad
Diámetro	0,44	[m]
Altura	1,32	[m]
Volumen	201,42	[L]

Por último, se utilizan balones de gas de 45 [kg], debido a que es el mayor tamaño disponible y pueden ser fácilmente transportados. A lo largo del año se utilizan 56 balones de gas, utilizando de a 7 que se van cambiando por nuevos. El cálculo del consumo de gas se encuentra en el anexo C.3.

5.6.2. Discusiones

Debido al escaso acceso a servicios de electricidad que existe en la comuna, se resuelve utilizar balones de gas licuado como combustible. Estos son utilizados en conjunto con un anafe (cocina industrial). En el balance de energía (en la ecuación C.4) se calcula el calor total que debe entregar la fuente. Tomando como supuesto que el calor se suministra de manera constante durante todo el proceso (2 horas), se calcula que el anafe debe tener una potencia de 30,8 [kW].

Así, se tiene la selección de tecnología y dimensionamiento del equipo de extracción y el de la fuente de energía. Sin embargo, no se encontraron anafes con la potencia necesaria en solo un quemador. Debido a esto, se decide que el proceso funcione con dos destiladores con capacidad de 100 [L] y dos anafes con potencia de 15,5 [kW]. La producción no varía, sim-

plemente se deben dividir los flujos de entrada expuestos en el balance de masa en 2 partes iguales.

Para futuras investigaciones, sería de interés estudiar el efecto del escalamiento en el rendimiento de la extracción del AE, para decidir el mejor volumen de destilador a utilizar.

5.7. Planificación de la planta

5.7.1. Resultados

Dado que la concentración de AE suele ser mayor en una estación o época del año, se define que la planta funcione solo durante 4 meses al año. Se establece un tiempo de trabajo de 9 horas diarias para la etapa de extracción, durante 6 días a la semana, considerando 5 de extracción de AE y 1 de limpieza del equipo (donde solo se trabajan 5 horas).

La duración de la etapa de destilación es de 2 horas, y se consideran 30 minutos de carga y de descarga del equipo. Esto daría un total de 3 horas por batch. Por lo tanto, se tiene una capacidad de producción de 3 batches diarios. Considerando la base de cálculo de los balances ya expuestos, 25 kilogramos de MV seco por batch, se pueden procesar 75 kilogramos de MV seco diarios. Para procesar la cantidad de material vegetal establecida en el caso base, se debe realizar la extracción por un total de 18 semanas. Esto incluye 1 semana de holgura.

El consumo anual de gas será de 56 balones de gas al año (calculado en el anexo C.3). Se deberá abastecer la planta con 6 a 7 balones cada dos semanas.

En 18 semanas trabajando 6 días semanales, se tiene un total de 105 días al año de trabajo, de los cuales 81 son destinados a extracción de AE y 17 a limpieza del equipo. Se consideran además 6 días de holgura.

En la Figura 5.3 se muestra la carta Gantt del proceso durante las 18 semanas, organizada por especie.

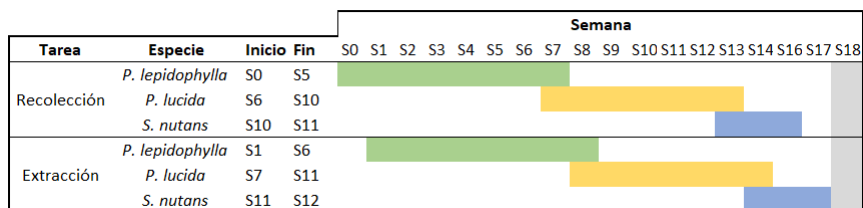


Figura 5.3: Carta Gantt del proceso de extracción de AEs

La operación de la planta necesita de dos trabajadores, quienes deben pesar las materias primas, cargar y descargar los 2 destiladores, operar los equipos, separar el AE del hidrolato y finalmente empaquetar el AE producido en los frascos.

5.7.2. Discusiones

Los miembros que participen de este proyecto lo harían como una fuente alternativa de ingresos, no como ocupación principal. Debido a esto, se considera el funcionamiento del proyecto como una cooperativa, donde la cantidad de trabajo realizado es proporcional a la cantidad de producto recibido. Luego cada miembro podrá comercializar su AE de manera independiente.

Es necesario que el trabajo sea compatible con las actividades diarias de los participantes. Para esto, si bien la planta funciona durante 9 horas diarias, se definen turnos de 3 horas, que es la duración de un batch. Las personas involucradas pueden tomar la cantidad de turnos que les acomode. Durante un turno, se realiza un batch. Mientras el equipo está en funcionamiento (2 horas) se pesan las materias primas para el siguiente batch y se empaqueta el AE obtenido del batch anterior (esto permite un periodo de decantación).

La mayoría de los miembros de la comunidad poseen ganado, el que debe salir a pastar durante el día, siendo vigilado o cuidado por su dueño. Los animales son dejados libres para que se alimenten, por lo que se estipula que la recolección de las plantas sea llevada a cabo al mismo tiempo que se realiza esta tarea. Esto permite que la recolección del MV también pueda acoplarse a la rutina diaria de los miembros del proyecto.

Para establecer la mejor época del año para trabajar, se plantea hacer extracciones de muestras en distintas estaciones, para maximizar el rendimiento de AE y con esto la producción.

5.8. Análisis Económico

Para realizar un análisis económico del proyecto se estiman los costos de inversión y de operación del proceso, además del flujo de caja del mismo, con un horizonte de 10 años. También se realiza un análisis del proyecto a través del modelo *canvas* de 3 capas, que consiste en examinar el proceso en los ámbitos económico, ambiental y social.

5.8.1. Costo de inversión (CAPEX)

El costo de inversión o de capital (también conocido como CAPEX) comprende los gastos asociados a la inversión que se tiene que hacer para que una planta pueda funcionar. Esto incluye los gastos de equipos, de construcción, instalaciones de servicios o eléctricas, entre otros. En este trabajo se utiliza un modelo simplificado del cálculo del CAPEX, donde se calcula el precio de los equipos y se define el porcentaje de la inversión total al que estos corresponden. Con esto se calcula el costo total de inversión del CAPEX, repartiendo el porcentaje restante entre las otras categorías, estimando los gastos en base a criterios pertinentes.

5.8.1.1. Costo equipos y CAPEX total

En la búsqueda de equipos comerciales, se encontraron destiladores del volumen dimensionado (200 [L]) pero no los datos de precios de los mismos. Además, tampoco se encontró un anafe que tuviera la potencia necesaria para el proceso. Así, se decide utilizar 2 destiladores con capacidad de volumen de 100 litros. Se debe comprar un anafe para cada uno. Al evaluar los costos de operación relacionados a la compra y transporte de agua destilada, se decidió optar por utilizar agua de pozos subterráneos para el proceso, destilándola en la planta. Para esto se define utilizar un destilador de 100 litros (calculado según el volumen necesario de agua para el proceso). Esto se debe principalmente a lo remoto de la comuna General Lagos donde se llevará a cabo el proceso, por lo que movilizar el agua destilada implicaría un gran costo.

Con esto en mente, se cotizan los equipos que se pueden ver en la Tabla 5.17

Tabla 5.17: Costos de equipos

	Equipo	Dimensión Característica	Valor	Precio [CLP]	N°	Referencia
Aceite	Destilador	Volumen	100,0 L	600.000	2	[105]
Esencial	Anafe	Potencia	15,5 kW	332.000	2	[106]
Agua	Destilador	Volumen	100,0 L	500.000	1	[107]
Destilada	Anafe	Potencia	15,5 kW	332.000	1	[106]

Con esto se calcula el costo total de inversión necesario para la categoría de equipos. Este costo se define como el 40 % del costo de inversión, sabiendo que es lo más caro. Esto dado que algunas cosas como el terreno o la instalación de servicios provienen de la comunidad y establecimientos previos. No se necesita de mayor infraestructura por lo que estos gastos serán bajos en comparación al de los equipos. El costo de equipos y el total se encuentran en

la Tabla 5.18.

Tabla 5.18: Costo total de los equipos y del CAPEX

Categoría CAPEX	Valor [CLP]	% de CAPEX
Equipos	2.696.000	40 %
Total	6.740.000	100 %

Así, se establece un capital de inversión de aproximadamente 7 millones de pesos chilenos, los que serán necesarios para poner en funcionamiento la planta de escala piloto de producción de aceites esenciales.

El CAPEX se divide en costos directos e indirectos, que corresponden al 76 % y 24 % respectivamente. La distribución de estos porcentajes es desglosada y justificada en las siguientes secciones. Todos los porcentajes fueron asignados considerando rangos ya establecidos [108].

5.8.1.2. Costos directos

A continuación, en la Tabla 5.19 se desglosan las categorías de costos directos del CAPEX, su valor asociado, el porcentaje del CAPEX al que corresponde y el rango normal de la misma.

A los equipos se les otorga el mayor porcentaje del rango, debido a que el proceso tiene pocos requerimientos técnicos y de infraestructura por lo que los equipos serán el mayor gasto de inversión.

En las categorías de instalación de los equipos, instrumentación y control y piping se asignan valores cercanos al mínimo de los rangos. En la instalación se tiene que el mayor gasto es el de trasladar los equipos desde el lugar de compra hasta Arica y luego Tacora. La única instrumentación necesaria sería de pesas para calcular el peso del MV, debido a que el destilador posee termómetro y no se necesita de herramientas de control. Tampoco se necesita una inversión mayor en piping dado que también viene con el equipo, sólo se deben establecer tubos o mangueras para los flujos de refrigerante.

Para la instalación eléctrica se considera también un gasto menor dado que sólo se necesitaría luz para que las personas a cargo de la destilación puedan hacerlo de manera correcta (se considera una que funcione con un panel solar o baterías). Cabe destacar que este tipo de energía no es utilizada para el resto del proceso debido a que la instalación sería más costosa y difícil debido a lo remoto del lugar.

Las construcciones utilizan un mayor porcentaje, del 10 %, debido a que se considera que es necesario construir una especie de galpón donde se pueda secar el MV y operar el equipo, al resguardo de las condiciones climáticas. El porcentaje asignado contempla una construcción básica y económica.

Para el terreno no se consideran gastos debido a que se planea utilizar terreno perte-

neciente a la comunidad. Las mejoras del mismo son básicas, lo suficiente para realizar la construcción del galpón.

Finalmente las instalaciones de servicios utilizan otro 10 % del CAPEX, considerando que se utilizará agua de un pozo ya existente pero que se necesitará instalar una llave de acceso dentro del galpón para facilitar el desarrollo del proceso.

Tabla 5.19: Costos Directos CAPEX

Categoría CAPEX	Valor [CLP]	% de CAPEX	Rango [%]
Equipos	2.696.000	40 %	15-40
Instalación de equipos	404.400	6 %	6-14
Instrumentación y control	202.200	3 %	2-8
Piping	202.200	3 %	3-20
Instalación eléctrica	134.800	2 %	2-10
Construcciones	674.000	10 %	3-18
Mejoras de terreno	134.800	2 %	2-5
Instalaciones de servicios	674.000	10 %	8-20
Terreno	0	0 %	1-2
Total	5.122.400	76 %	-

5.8.1.3. Costos indirectos CAPEX

Los costos indirectos del CAPEX son expuestos en la Tabla 5.20, donde se encuentra su valor, porcentaje asignado del CAPEX y rango normal de porcentaje de la categoría.

No se asigna gastos a ingeniería y supervisión debido a que la construcción de infraestructura e instalación es simple y no necesita de especialistas para ser llevada a cabo.

A los gastos de construcción y honorarios de contratistas se les asigna porcentajes medios dentro del rango, pensando en la construcción e instalación de los equipos, incluyendo traslado y materiales necesarios.

Finalmente, se considera un 10 % del CAPEX para contingencia, quedando dinero que permita solucionar imprevistos.

Tabla 5.20: Costos Indirectos CAPEX

Categoría CAPEX	Valor [CLP]	% de CAPEX	Rango [%]
Ingeniería y supervisión	0	0 %	4-21
Gastos de construcción	674.000	10 %	4-16
Honorarios de contratistas	269.600	4 %	2-6
Contingencia	674.000	10 %	5-15
Total	1.617.600	24 %	-

5.8.2. Costos de operación (OPEX)

Los costos de operación de una empresa (también llamado OPEX) corresponden a los gastos que tiene una empresa durante su funcionamiento. Estos se dividen en gastos fijos y variables.

Los gastos fijos consideran mano de obra (desde gerencia hasta operadores) y servicios de administración. En el caso particular de este proceso, no se consideran gastos fijos. Como ya fue expuesto, debido a la naturaleza comunitaria del proyecto, se tiene que el producto se repartirá entre los miembros según su nivel de participación en el proceso de recolección y extracción. Todo el proceso puede ser llevado a cabo por la comunidad, desde la recolección hasta la venta del producto final, por lo que no es necesario contratar personas.

Debido a esto, el OPEX corresponde solamente a los costos variables. Estos se exponen en la Tabla 5.21. Los gastos se calculan para un año de operación (recordando que funciona solo durante una temporada)

Dentro de consumibles y reactivos se encuentran el agua refrigerante y el agua destilada, además del MV. Ninguno de estos tiene asociado un gasto, dado que el agua sale de un pozo ya existente y el MV es extraído de terreno perteneciente a la comunidad. Así, solo se necesitan los frascos en los cuales se venderá el AE.

Para la categoría de insumos, principalmente se consideran las fuentes de energía y agua. Como ya fue mencionado, el agua no tiene un costo asociado, pero se necesita gas para destilar el agua de pozo y para la destilación del AE. Según el rendimiento del gas, los balances de energía y las características de los equipos cotizados, se calcula la cantidad de balones de gas de 45 kilogramos que se necesitan anualmente y el precio en bencina de trasladar los balones de Arica a Tacora y viceversa para su recarga. Los cálculos y supuestos tomados para estos costos se describen en el anexo C.3.

Finalmente, los gastos asignados a la mantención de los equipos y la planta suelen estar en un rango del 2 % al 20 %. Para este caso se asigna un 10 % debido a que el único equipo del proceso es el destilador, el cuál no debería necesitar mayor mantención, pero aún así es importante debido a que el proceso depende del mismo.

Tabla 5.21: Costos OPEX

Categoría OPEX	Ítem	Valor [CLP]
Consumibles y Reactivos	Frascos	570.310
Insumos	Gas	3.919.440
	Bencina	448.560
Mantenición	-	501.307
Total		5.514.377

5.8.3. Flujo de caja

Teniendo los costos calculados en las secciones anteriores, se procede a realizar el flujo de caja del proyecto con un horizonte de proyección de 10 años, según la duración de la inversión[109]. Se consideran los costos e ingresos del proceso, además de impuestos y la depreciación de los equipos.

Los impuestos considerados son el Impuesto al Valor Agregado (IVA) para la inversión (19%) [110] y el Impuesto a las Ventas y Servicios (27%) [111]. Dependiendo de la forma de venta, puede que este impuesto no sea aplicado (por ejemplo, los miembros que participan de ferias indígenas de la CONADI), pero se calcula para considerar el caso de miembros de la comunidad que realicen otro tipo de ventas.

Como indicadores económicos, se calcula el Valor Actual Neto (VAN), la Tasa Interna de Retorno, y el periodo de retorno de la inversión (Payback), los que sirven para poder decidir si un proyecto es viable o no. Se utiliza una tasa de descuento del 12%.

Se realizó un breve estudio de los precios de este tipo de producto, obteniendo que los precios de los AEs en formato de frascos de 5 [mL] varían entre los \$5.000 y \$20.000 pesos chilenos, concentrándose en precios entre los \$8.000 y \$12.000. Así, se calculan dos flujos de caja.

En el primero se establece el precio mínimo que logra obtener un VAN positivo y una TIR mayor a la tasa de retorno, el cual es de \$5.250 por frasco. Este entonces se fija como el precio que debería devolver cada miembro participante del proyecto por cada frasco que obtenga. Este flujo de caja se presenta en la Tabla 5.4.

Este precio es el precio mínimo que logra que el proyecto sea rentable, entregando valores de VAN y TIR que indican que conviene realizar el proyecto. Sin embargo, el Payback es de 10 años, lo que implicaría que es necesario esperar 10 años para recuperar la inversión inicial. Si bien se espera que gran parte o la totalidad de la inversión sea obtenida desde fondos concursables, el valor sigue siendo bajo para el indicador y se busca recuperar la inversión en menor tiempo.

En el segundo flujo de caja, se establece un precio de venta de \$10.000. Este considera los precios de la competencia y que el producto es único debido a lo remoto del crecimiento de las plantas de estudio, además de ser de origen natural y no estar diluido con otras sustancias. Es-

tos resultados se muestran en la Tabla 5.5. En este flujo de caja, los valores de los indicadores aumentan considerablemente, teniendo un VAN de más de 30 millones de pesos, una TIR del 71,28% y un Payback de 2 años. Esto indica que es altamente conveniente realizar el proyecto.

Factores	AÑO										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(+) Ingresos por ventas	-	7.302.750	7.302.750	7.302.750	7.302.750	7.302.750	7.302.750	7.302.750	7.302.750	7.302.750	7.302.750
(-) OPEX	-	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377
(+/-) Ganancias/pérdidas de Capital	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	91.200
(-) Depreciaciones	-	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000
(-) Pérdidas ejercicio anterior	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(=) Utilidad antes de Impuesto	0	1.564.373	1.564.373	1.564.373	1.564.373	1.564.373	1.564.373	1.564.373	1.564.373	1.564.373	1.655.573
(-) Impuesto (27%)	-	-422.381	-422.381	-422.381	-422.381	-422.381	-422.381	-422.381	-422.381	-422.381	-447.005
(=) Utilidad después de Impuesto	0	1.141.992	1.141.992	1.141.992	1.141.992	1.141.992	1.141.992	1.141.992	1.141.992	1.141.992	1.208.568
(+) Depreciaciones	-	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000
(-/+) Ganancias/pérdidas de Capital	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-91.200
(+) Pérdida ejercicio anterior	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(=) Flujo de caja Operacional	0	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.341.368
(-) Inversiones (CAPEX)	-6.740.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(-) IVA de la inversión	-1.280.600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+) Recuperación del IVA de la inversión	-	1.280.600	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+) Valor Residual de los activos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	547.200
(-) Capital de trabajo	-1.378.594	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+) Recuperación del Capital de Trabajo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.378.594
(=) Flujo de Capitales	-9.399.194	1.280.600	0	0	0	0	0	0	0	0	1.925.794
Flujo de caja Neto	-9.399.194	2.646.592	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	1.365.992	3.267.163
VAN ANUAL	-9.399.194	2.363.029	1.088.961	972.286	868.113	775.101	692.054	617.906	551.701	492.591	1.051.939
VAN (CLP)	74.486										
TIR	12,20%										
Payback	10 años										

Figura 5.4: Flujo de caja cuando el precio de venta es de \$5.250

Factores	AÑO										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(+) Ingresos por ventas	-	13.910.000	13.910.000	13.910.000	13.910.000	13.910.000	13.910.000	13.910.000	13.910.000	13.910.000	13.910.000
(-) OPEX	-	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377	-5.514.377
(+/-) Ganancias/pérdidas de Capital	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	91.200
(-) Depreciaciones	-	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000	-224.000
(-) Pérdidas ejercicio anterior	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(=) Utilidad antes de Impuesto	0	8.171.623	8.171.623	8.171.623	8.171.623	8.171.623	8.171.623	8.171.623	8.171.623	8.171.623	8.262.823
(-) Impuesto (27%)	-	-2.206.338	-2.206.338	-2.206.338	-2.206.338	-2.206.338	-2.206.338	-2.206.338	-2.206.338	-2.206.338	-2.230.962
(=) Utilidad después de Impuesto	0	5.965.285	5.965.285	5.965.285	5.965.285	5.965.285	5.965.285	5.965.285	5.965.285	5.965.285	6.031.861
(+) Depreciaciones	-	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000	224.000
(-/+) Ganancias/pérdidas de Capital	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-91.200
(+) Pérdida ejercicio anterior	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(=) Flujo de caja Operacional	0	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.164.661
(-) Inversiones (CAPEX)	-6.740.000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(-) IVA de la inversión	-1.280.600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+) Recuperación del IVA de la inversión	-	1.280.600	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+) Valor Residual de los activos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	547.200
(-) Capital de trabajo	-1.378.594	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+) Recuperación del Capital de Trabajo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.378.594
(=) Flujo de Capitales	-9.399.194	1.280.600	0	0	0	0	0	0	0	0	1.925.794
Flujo de caja Neto	-9.399.194	7.469.885	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	6.189.285	8.090.455
VAN ANUAL	-9.399.194	6.669.540	4.934.060	4.405.411	3.933.402	3.511.966	3.135.684	2.799.718	2.499.748	2.231.918	2.604.910
VAN (CLP)	27.327.164										
TIR	71,28%										
Payback	2 años										

Figura 5.5: Flujo de caja cuando el precio de venta es de \$10.000

5.8.4. *Canvas* de modelo de negocios de 3 capas

Como fue expuesto en los alcances de este diseño de proceso no se considera la realización de estudios ambientales y sociales. No obstante, se decide utilizar hacer un breve análisis de estas áreas a través de un *canvas* de modelo de negocios de 3 capas. Esta herramienta considera el *canvas* de modelo de negocios tradicionalmente utilizado, y agrega una capa basada en un análisis de ciclo de vida y otra que evalúa factores sociales. La capa social y ambiental se basan en el diseño original de la capa económica, considerando distintos factores que logran una coherencia horizontal y vertical entre las 3 capas. Esto implica que cada capa es coherente en sí misma, y cada casilla de una capa tiene el mismo enfoque que las que utilizan la misma posición en las otras. Esta relación está ejemplificada en la Figura 5.6. A continuación se entregan las 3 capas, con una breve descripción de los componentes de cada una.

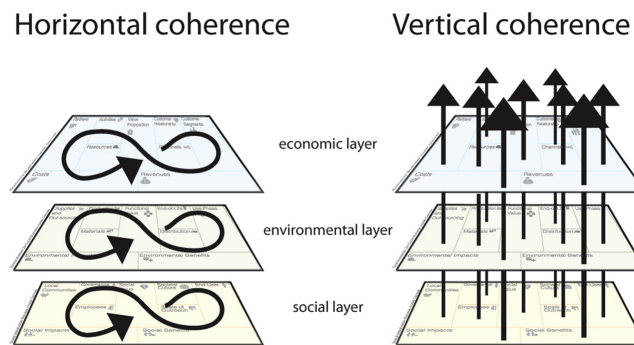


Figura 5.6: Representación gráfica de la coherencia horizontal y vertical del *canvas* de 3 capas

5.8.4.1. Capa Económica

La capa económica corresponde al *canvas* de modelo de negocios tradicional. En este se define la propuesta de valor del proyecto, los socios, actividades y recursos claves del proyecto, la relación y comunicación con el cliente y la caracterización del mismo. Finalmente evalúa los principales costos e ingresos.

En la Figura 5.7 se encuentra la capa económica del *canvas* para el proyecto diseñado.



Figura 5.7: Capa económica del *canvas* de 3 capas

5.8.4.2. Capa Ambiental

La capa ambiental del *canvas* se basa en un análisis de ciclo de vida. Así, se define el valor funcional del proyecto, en este caso la producción anual de AE. El resto de las casillas del *canvas* son evaluadas en torno al valor funcional.

Se consideran los suministros y materiales utilizados, destacando los con mayor impacto ambiental. Se evalúan las actividades relacionadas a la producción y distribución que generan impactos ambientales y también los impactos que se generan en el uso y fin de vida del producto. Finalmente se consideran los principales impactos y beneficios ambientales. La capa ambiental del *canvas* para este proyecto se encuentra en la Figura 5.8.

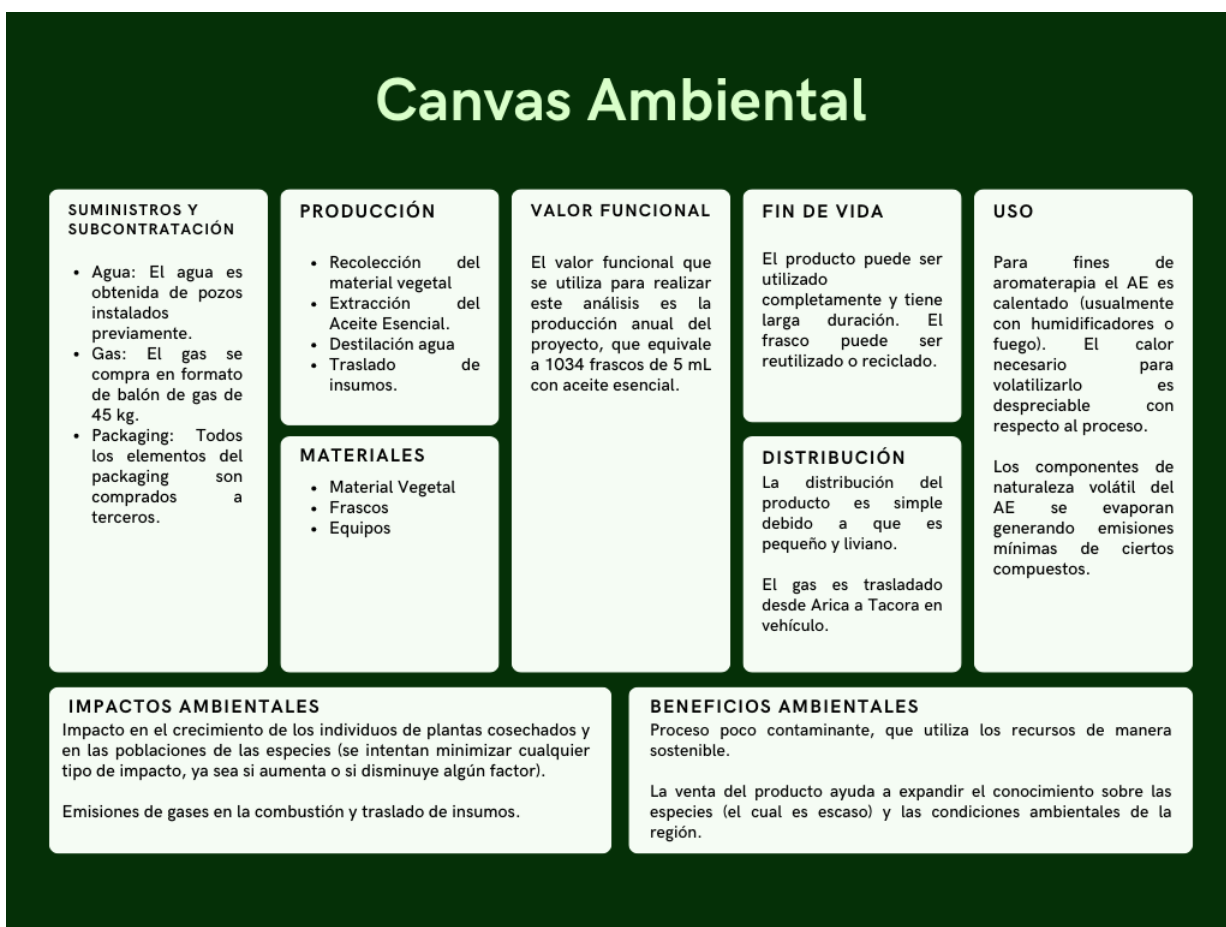


Figura 5.8: Capa ambiental del *canvas* de 3 capas

5.8.4.3. Capa Social

El *canvas* de 3 capas considera una capa que evalúe los impactos sociales de un proyecto, desde la producción hasta el consumo. Para esto se define el valor social del proyecto (qué valor genera a los *stakeholders* y a la sociedad en general). Se identifican las interacciones de la comunidad local con el proyecto, la gobernanza o jerarquía de este y sus empleados. Luego se evalúa el aporte cultural a la sociedad y los alcances del mismo. Además, se describe como los usuarios finales reciben o aprovechan el valor social del proyecto. Finalmente se analizan los principales impactos y beneficios sociales del proyecto. La capa social del *canvas* para este proyecto se encuentra en la Figura 5.9.

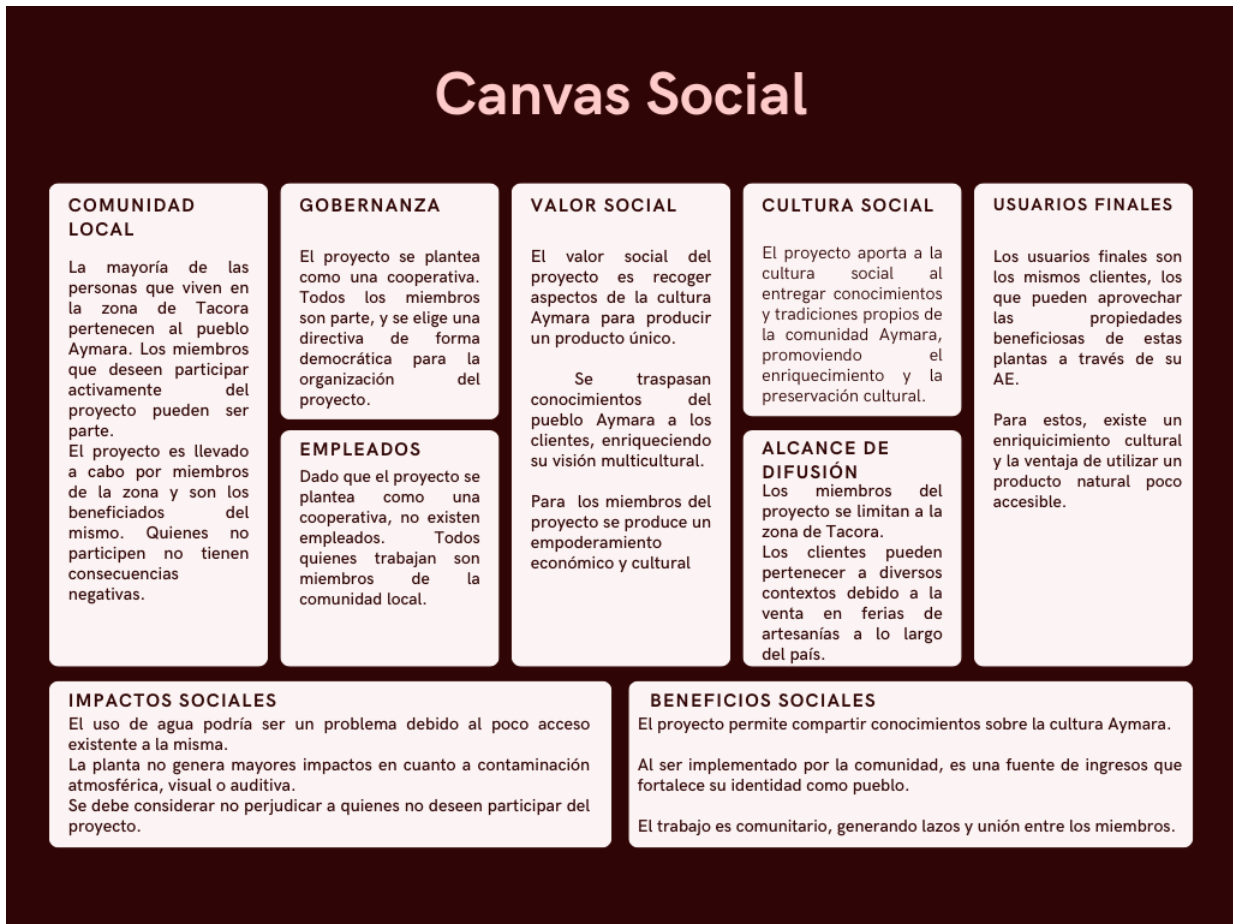


Figura 5.9: Capa social del *canvas* de 3 capas

5.8.5. Discusiones

Para analizar el aspecto económico del proyecto, se estudiaron los costos de inversión, operacionales y se hizo un flujo de caja con horizonte de tiempo de 10 años. Estas metodologías fueron elegidas debido a que son metodologías estandarizadas de diseño de procesos.

Los resultados obtenidos para los costos de inversión (CAPEX) vienen de la cotización de los equipos. Estos son 3 destiladores (2 para extracción y 1 para destilación de agua) con sus 3 respectivos anafes. Se define que estos corresponden a un 40 % del CAPEX total. Así, el CAPEX total es de aproximadamente 7 millones de pesos. Esta inversión es menor al compararla con plantas de procesos más industrializados, pero es un monto difícil de conseguir para la comunidad. Debido a esto, se recomienda que sean obtenidos de fondos municipales o gubernamentales, existiendo algunos fondos específicos destinados a fomentar emprendimientos que estén relacionados con la cultura y las tradiciones de las comunidades indígenas.

Si se consiguen fondos para la inversión, los miembros que participen del proyecto podrán percibir ingresos luego del primer periodo de producción, y no esperar unos años, lo que facilita la distribución del trabajo y promueve la participación de la comunidad.

Al resto de las categorías los costos directos e indirectos se les asignó un porcentaje dentro de rangos comunes en el diseño de procesos. Estos fueron justificados en la misma sección, pero se discute que algunos podrían ser menores, debido a que miembros de la comunidad pueden poseer materiales, espacios o instrumentos que sean útiles y puedan donar al proyecto.

Los costos de operación del proyecto (OPEX) corresponden principalmente a la energía y los frascos para el empaquetado. El mayor gasto corresponde a la energía utilizada en la extracción, que se obtiene de balones de gas licuado. Este gasto fue calculado con sobrestimaciones, prefiriendo obtener un valor mayor al real para evitar problemas con los gastos considerados. Por lo tanto, se debe calcular el valor real una vez implementado el proceso para tener valores del OPEX más exactos. La bencina necesaria también fue calculada con sobre-estimaciones, pero este gasto es menor en comparación al del gas.

Se realizaron dos flujos de caja. En el primero, el precio de venta se define como el mínimo que genera indicadores de VAN y TIR favorables. Se utiliza un valor “cerrado”, pensando en definir este como el precio de “venta” para miembros de la comunidad. Este sería el precio que cada miembro debe pagar al proyecto o empresa por frasco, y luego puede venderlo a un precio mayor. Con este precio se generan ganancias para la empresa, que pueden ser utilizadas en caso de necesidad o para inversiones futuras que mejoren el proceso.

El segundo flujo de caja se hace con un precio de venta de \$10.000, que está dentro del rango de la competencia. Este genera indicadores de VAN y TIR favorables, y en caso de no conseguir fondos para cubrir parcial o totalmente la inversión, esta se recupera en sólo 2 años.

Los resultados de este flujo de caja indican que el proyecto es rentable y es viable hacerlo. Esto era esperable debido a que la materia prima (tanto el agua como el MV) no tienen un costo asociado. Esto permite que los gastos operacionales sean menores. Si se quiere escalar el proceso para producir más, se puede recolectar mayor cantidad de MV sin afectar negati-

vamente el ecosistema, según los cálculos realizados en el caso base. Sin embargo, el agua es escasa en la región, por lo que para escalar el proceso sería necesario conocer los derechos de agua del pozo utilizado, lo que limitaría el nivel de producción. Si no, se tendrían que buscar alternativas para el abastecimiento de agua. Cabe notar que esta es la que se utiliza para la extracción, que debe destilarse, porque el flujo de refrigeración puede ser reutilizado.

Los precios fueron en general calculados con leves sobre-estimaciones, por lo que se esperaría que el proyecto fuera aún más rentable que lo expuesto en este trabajo. En futuros avances del proyecto se recomienda analizar los distintos fondos a los que puede acceder la comunidad para disminuir los costos de inversión.

En esta memoria se decidió no abarcar un análisis ambiental ni social. Esto debido a la extensión de los mismos, alejándose del objetivo principal de este trabajo. Sin embargo, estos factores son sumamente relevantes al iniciar un proyecto. Por esto se decide realizar un análisis a través de un *canvas* de modelo de negocios de 3 capas. Esto permite una exploración preliminar de estos ámbitos.

Para futuras investigaciones, se recomienda realizar un análisis de ciclo de vida del proceso y un análisis social más profundo. Aún así, en este trabajo se logra identificar las principales causas de impactos económicos, ambientales y sociales, además de los beneficios en estos ámbitos que genera el proceso.

Este análisis considera los beneficios e impactos para los participantes del proyecto, los clientes, la comunidad y la sociedad en general. Los impactos negativos generados se asocian al uso de agua y energía, pero en el nivel de producción establecido deberían producir efectos menores. Se pueden tomar distintas decisiones en el diseño del proceso que promuevan los beneficios del mismo y disminuyan los impactos negativos. Esto se considera al realizar el análisis de 3 capas y también a lo largo del trabajo. Revalorizar los desechos y reutilizar el agua permite menores gastos y mayores ingresos, además de disminuir la huella ecológica del proceso.

El proyecto beneficia al medioambiente, la comunidad participante y la sociedad, promoviendo el conocimiento de la cultura Aymara y sus tradiciones a través de un producto único y novedoso.

Capítulo 6

Conclusiones

Este trabajo aborda el diseño de un proceso de extracción de AEs a partir de tres plantas nativas del altiplano, en colaboración con la comunidad Aymara de Tacora. Los resultados obtenidos no solo aportan información valiosa sobre sus propiedades bioactivas, sino que también proporcionan un marco sostenible para la implementación de técnicas tradicionales. En esta memoria se plantea el objetivo general de diseñar un proceso de extracción a partir de las plantas nativas *P. lepidophylla* (Sipotola), *P. lucida* (Humatola) y *S. nutans* (Chachacoma), además de evaluar sus propiedades antibacterianas y antioxidantes. Las plantas son elegidas debido a su crecimiento endémico en la región y sus usos medicinales ancestrales.

Se pudo extraer AE de las 3 especies, cumpliendo con el primer objetivo específico de este trabajo. La extracción fue llevada a cabo por destilación de vapor agua, que entregó rendimientos de 0,11; 0,09 y 0,53 [%mL/g] para *P. lepidophylla* (Sipotola), *P. lucida* (Humatola) y *S. nutans* (Chachacoma), respectivamente. El mejor rendimiento entre las 3 especies de estudio fue el de *S. nutans*, y fue similar a lo obtenido en otros estudios de la misma planta. Las 3 especies obtuvieron valores dentro del rango normal (entre 0,01 %y 2 %). Se espera que para *P. lucida* sea mayor debido a problemas en la recuperación del AE durante el proceso.

El segundo objetivo fue evaluar las propiedades antioxidantes y antibacterianas de los AEs extraídos. Se utilizó la metodología del radical DPPH para medir la actividad antioxidante y la actividad antibacteriana fue evaluada a través del método de difusión de disco contra la cepa *E. coli* top10. En la evaluación de la actividad antibacteriana, *S. nutans* mostró la actividad antibacteriana más alta de las tres especies estudiadas, comparable a la ampicilina en algunos casos. *P. lepidophylla* demostró una actividad antibacteriana moderada y *P. lucida* obtuvo el menor nivel de actividad antibacteriana entre las tres especies, lo que está alineado con estudios previos.

En cuanto a la actividad antioxidante, el AE de *P. lepidophylla* mostró la mayor actividad antioxidante de las tres especies estudiadas, contradiciendo estudios previos que se enfocaron en otros tipos de extractos. Se obtuvieron porcentajes de inhibición del radical DPPH mayores al 40 % para esta especie, mientras que para las otras fueron cercanos al 10 %. Los resultados para *P. lucida* y *S. nutans* sugieren que estas especies podrían ser menos efectivas como antioxidantes en comparación con *P. lepidophylla*, aunque sus extractos han demostrado previamente una significativa capacidad antioxidante.

El tercer objetivo específico es el diseño del proceso de extracción de AEs. Se define un caso base de recolección anual de aproximadamente 6 toneladas de material vegetal (en total). El caso base proporciona un marco efectivo para estimar la cantidad sostenible de materia prima que la comunidad de Tacora puede recolectar, respetando las prácticas culturales Aymara y asegurando un impacto ambiental mínimo.

El proceso diseñado consta de 5 operaciones unitarias, recolección y secado del material vegetal, extracción del AE, separación del AE y el hidrolato y finalmente empaquetado y almacenamiento del AE. Como método de extracción para el proceso se seleccionó la destilación vapor-agua, validada por su simplicidad, eficacia y adecuación a las condiciones locales. Las estrategias propuestas para la gestión de insumos y residuos demuestran un compromiso con la sostenibilidad ambiental, maximizando el uso de recursos y minimizando los desechos a través de la reutilización y revalorización de los mismos. Esto reduce el impacto ambiental y proporciona subproductos útiles para la comunidad, reforzando la sostenibilidad del proceso.

Con los balances de masa se estima una producción de 1391 frascos de 5 [mL] de AE, que es de los formatos más utilizados. Además, se realizó un balance de energía simplificado, cuyos resultados proporcionaron una estimación del gasto energético. Con los resultados del dimensionamiento, se decide utilizar la configuración de dos destiladores de 100 [L] que funcionan simultáneamente.

El proyecto se plantea como una cooperativa, lo que permite a los participantes recibir una parte del producto final proporcional a su trabajo, facilitando la comercialización independiente de aceites esenciales.

El último objetivo específico es analizar la factibilidad económica del proceso diseñado. El análisis económico detallado indica que el proyecto es rentable y viable. Se estima una inversión de 7 millones de pesos. Los flujos de caja proyectados demuestran que la inversión puede recuperarse en 2 años con un precio de venta de frasco de \$10.000, obteniendo un VAN de más de 30 millones de pesos y una TIR del 71,28%. Los costos operativos fueron calculados con sobrestimaciones para evitar gastos inesperados, dando un total aproximado de 5 millones de pesos, pero la disponibilidad de materiales, espacios y herramientas de la comunidad, además de beneficios otorgados por el Estado, pueden reducir los costos reales. La optimización del consumo de gas licuado y la reutilización de agua en el proceso también contribuirán a mantener bajos los gastos operacionales.

Aunque no se profundizó en el análisis ambiental y social en este trabajo, el uso de un modelo de negocios de 3 capas permitió una evaluación preliminar de estos aspectos. Se identificaron las principales fuentes de impactos económicos, ambientales y sociales, así como los beneficios asociados. La reducción de desechos y la reutilización de recursos ayudan a disminuir la huella ecológica del proceso, haciendo que sea más sostenible. El proyecto fomenta el conocimiento y la preservación de la cultura Aymara, generando un impacto positivo para la comunidad y la sociedad en general. A través de la creación de un producto único y sostenible, se promueven las tradiciones locales y se ofrece una fuente alternativa de ingresos que puede fortalecer la economía de la comunidad.

En conclusión, este trabajo diseña un proceso de extracción de aceites esenciales de plantas

nativas del altiplano en colaboración con la comunidad Aymara de Tacora. Los resultados obtenidos no solo aportan conocimientos sobre las propiedades bioactivas de estos aceites, sino que también demuestran la viabilidad económica y el potencial sostenible de implementar este proceso. Además, se destaca la importancia de preservar las prácticas tradicionales y el conocimiento ancestral de la comunidad, integrándolos de manera efectiva en el desarrollo de proyectos que beneficien tanto a la comunidad como al medio ambiente. Este estudio sienta las bases para futuras investigaciones y aplicaciones prácticas en el campo de la biotecnología y el desarrollo sostenible.

Dado que las plantas provienen de una ubicación remota y han sido poco estudiadas, la información expuesta en este trabajo es un estudio preliminar, que sienta la base para estudios futuros. Investigar los aceites esenciales de estas especies proporciona nuevas oportunidades para descubrir aplicaciones innovadoras en campos que van desde la medicina hasta la agricultura sostenible, que podrían llevar a avances significativos en cada área. Se sugiere estudiar en profundidad las propiedades y composición de los AEs. Con respecto al proceso, este trabajo genera una base para iniciar la producción. Se recomienda un monitoreo periódico para evaluar sus impactos, mejorar el rendimiento y aumentar la eficiencia.

Bibliografía

- [1] J. R. C., “Pueblos originarios y sus comunidades en Chile: Reconocimiento legal y proyectos de ley,” *Biblioteca del Congreso Nacional de Chile*, pp. 1–2.
- [2] M. P. V., “Cosmovisión aymara y su aplicación práctica en un contexto sanitario del norte de Chile,” *Revista de Bioética y Derecho*, pp. 1–5, 2006.
- [3] H. G. Kroll and H. G. Cortez, *Cultura Material Aymara*. 2015.
- [4] U. de Coordinación de Asuntos Indígenas del Ministerio de Desarrollo Social y Familia, “Diccionario de la lengua aymara.,” 2021.
- [5] B. del Congreso Nacional de Chile, “General Lagos informe comunal 2023,” 2023.
- [6] P. Fernández, Y. Reyes, C. Vargas, C. Galleguillos, I. Newman, M. Campos, C. Planella, and F. Carreño, *General Lagos, Territorio ancestral por conocer*. Consejo Nacional de la Cultura y las Artes, 2016.
- [7] A. E. Muñoz and C. Bonacic, “Variación estacional de la flora y vegetación en la precordillera andina de la comuna de Putre (I región de Tarapacá, Chile) durante el período 2002-2003,” *Gayana. Botánica*, vol. 63, no. 1, pp. 75–92, 2006.
- [8] I. M. de General Lagos, “Localidades del sector línea,” 2023.
- [9] J. Araya-Presa, F. Squeo, L. Barrientos, E. Belmonte, M. Mamani, and G. Arancio, “Manual de plantas y canciones aymara,” *Proyecto Explora-Conicyt. Universidad de La Serena. Chile*, 2003.
- [10] L. Gimenez, N. D. Vignale, and A. A. Gurni, “Calidad botánica de seis plantas andinas, condimenticias y medicinales, comercializadas en la ciudad de San Salvador de Jujuy, Argentina,” *Dominguezia*, vol. 35, no. 2, pp. 15–22, 2019.
- [11] S. Beck, A. Domic, C. Garcia, R. Meneses, K. Yager, and S. Halloy, “El Parque Nacional Sajama y sus plantas,” *La Paz: Herbario Nacional de Bolivia-Fundación PUMA*, 2010.
- [12] J. S. González and J. J. M. Díaz, *Flora nativa de la región de Arica y Parinacota*. Ediciones Universidad de Tarapacá, 2017.
- [13] A. D. L. SUPERIOR, “Etnobotánica del sur de los Andes de la primera región de Chile: Un enlace entre las culturas altiplánicas y las de quebradas,” *Chungara, Revista de Antropología Chilena*, vol. 35, no. 1, pp. 73–124, 2003.
- [14] P. A. Andino, “Educación ambiental del altiplano: Flora y fauna,” 2013.
- [15] A. Moreira-Muñoz, M. Muñoz-Schick, A. Marticorena, and V. Morales, “Catálogo de Asteraceae (Compositae) de la región de Arica y Parinacota, Chile,” *Gayana. Botánica*, vol. 73, no. 2, pp. 226–267, 2016.
- [16] J. Benites, E. Gutierrez, J. López, M. Rojas, L. Rojo, M. do Céu Costa, M. P. Vinardell,

- and P. B. Calderon, "Evaluation of analgesic activities of tremetone derivatives isolated from the Chilean altiplano medicine *Parastrephia lepidophylla*," *Natural Product Communications*, vol. 7, no. 5, p. 1934578X1200700517, 2012.
- [17] E. V. Avendaño Quispe and I. M. Urdánegui Ugarte, *Valoración económica del servicio ecosistémico de captura de carbono de tolares (*Parastrephia lepidophylla*, *Parastrephia lucida* y *Baccharis tricuneata*) en la Reserva Nacional de Salinas y Aguada Blanca, Arequipa-Perú*. PhD thesis, Universidad Católica de Santa María, 2022.
- [18] J. Echeverría, N. Y. Paniagua-Zambrana, and R. W. Bussmann, "Parastrephia lucida (Meyen) Cabrera, Parastrephia quadrangularis (Meyen) Cabrera, Parastrephia teretiuscula (Kuntze) Cabrera, Asteraceae," in *Ethnobotany of the Andes*, pp. 1–6, Springer, 2020.
- [19] M. I. Isla, I. C. Zampini, and A. S. Cuello, *Parastrephia lucida (Meyen) Cabrera*, pp. 399–409. Cham: Springer International Publishing, 2021.
- [20] V. R. Preedy, *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic Press, 2015.
- [21] A. Martínez, "Aceites esenciales," *J. Nat. Prod.*, vol. 59, no. 1, pp. 77–79, 1996.
- [22] R. G. Berger, *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer Science & Business Media, 2007.
- [23] S. Malik, *Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial Applications and Biotechnological Production*. Springer, 2019.
- [24] A. E. d. N. UNE, "Materias primas aromáticas naturales." <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma?c=N0069553>, 2021.
- [25] A. Djilani and A. Dicko, "The therapeutic benefits of essential oils," in *Nutrition, Well-Being and Health* (J. Bouayed and T. Bohn, eds.), ch. 7, Rijeka: IntechOpen, 2012.
- [26] J. Usano-Aleman, J. P. Paúl, and S. Díaz, "Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana," *Reduca (Biología)*, vol. 7, no. 2, 2014.
- [27] Z. Hazzoumi, "Aceite esencial y pelos glandulares." <https://www.colfarma.info/colfarma/detectan-el-potencial-aceites-esenciales-de-plantas-aromaticas-como-repelentes-e-insecticidas/>.
- [28] K. Hüsnü Can Başer, G. Buchbauer, *et al.*, "Handbook of essential oils: science, technology, and applications.," *Handbook of essential oils: science, technology, and applications.*, no. Ed. 2, 2015.
- [29] M. Andrade, R. Ribeiro-Santos, and A. S. Silva, "Essential oils from plants: industrial applications and biotechnological production," *Exploring Plant Cells for the Production of Compounds of Interest*, pp. 145–170, 2021.
- [30] Paco Noriega, "Terpenos en aceites esenciales: bioactividad y aplicaciones." <https://www.intechopen.com/chapters/73536>.
- [31] B. Adorjan and G. Buchbauer, "Biological properties of essential oils: an updated review," *Flavour and fragrance journal*, vol. 25, no. 6, pp. 407–426, 2010.
- [32] M. F. O. Sánchez, *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Aiyana ediciones, 2006.
- [33] "Regla de las fases y sistemas de uno y dos componentes." <https://www.insugeo.org.ar>

/libros/misc_18/06.htm.

- [34] EducaMadrid, “Embudo de decantación.” <https://mediateca.educa.madrid.org/image/n/8f3m4pwyhdn1v8u8>.
- [35] M. Cerutti and F. Neumayer, “Introducción a la obtención de aceite esencial de limón,” *Invenio: Revista de investigación académica*, no. 12, pp. 149–155, 2004.
- [36] F. Reyes-Jurado, A. Franco-Vega, N. Ramírez-Corona, E. Palou, and A. López-Malo, “Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling,” *Food Engineering Reviews*, vol. 7, pp. 275–297, 2015.
- [37] N. Chaves, “Diseño de un sistema termo-mecánico para la extracción de aceites esenciales de fuentes biomásicas.”
- [38] M. K. Swamy, M. S. Akhtar, U. R. Sinniah, *et al.*, “Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review,” *Evidence-based complementary and alternative medicine*, vol. 2016, 2016.
- [39] S. Qadir, S. Bashir, and R. John, “Saffron—immunity system,” in *Saffron*, pp. 177–192, Elsevier, 2020.
- [40] D. Kalembe and A. Kunicka, “Antibacterial and antifungal properties of essential oils,” *Current medicinal chemistry*, vol. 10, no. 10, pp. 813–829, 2003.
- [41] A. Mutlu-Ingok, D. Devecioglu, D. N. Dikmetas, F. Karbancioglu-Guler, and E. Capanoglu, “Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: An updated review,” *Molecules*, vol. 25, no. 20, p. 4711, 2020.
- [42] J. R. Hood, J. M. Wilkinson, and H. M. Cavanagh, “Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research,” *Journal of Essential Oil Research*, vol. 15, no. 6, pp. 428–433, 2003.
- [43] S. Chouhan, K. Sharma, and S. Guleria, “Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives,” *Medicines*, vol. 4, no. 3, p. 58, 2017.
- [44] M. Martí, B. Frígols, and A. Serrano-Aroca, “Characterization of advanced materials for bioengineering applications,” 2018.
- [45] I. N. del Cáncer, “Diccionario de cáncer del nci.” <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/metabolismo>.
- [46] M. Coronado, S. Vega y León, R. Gutiérrez, M. Vázquez, and C. Radilla, “Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana,” *Revista chilena de nutrición*, vol. 42, no. 2, pp. 206–212, 2015.
- [47] P. Mucha, A. Skoczyńska, M. Małecka, P. Hikisz, and E. Budzisz, “Overview of the antioxidant and anti-inflammatory activities of selected plant compounds and their metal ions complexes,” *Molecules*, vol. 26, no. 16, p. 4886, 2021.
- [48] I. N. del Cáncer, “Antioxidantes y prevención del cáncer.” <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/dieta/hoja-informativa-antioxidantes>, 2017.
- [49] J. Elejalde Guerra, “Oxidación, entre la vida y la enfermedad,” in *Anales de medicina Interna*, vol. 18, pp. 9–14, SciELO Espana, 2001.
- [50] M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, and K. Robards, “Methods for testing antioxidant activity,” *Analyst*, vol. 127, no. 1, pp. 183–198, 2002.

- [51] I. G. Munteanu and C. Apetrei, “Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review,” *International journal of molecular sciences*, vol. 22, no. 7, p. 3380, 2021.
- [52] F. Shahidi and Y. Zhong, “Measurement of antioxidant activity,” *Journal of functional foods*, vol. 18, pp. 757–781, 2015.
- [53] R. L. Prior, X. Wu, and K. Schaich, “Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements,” *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 53, no. 10, pp. 4290–4302, 2005.
- [54] R. Torres Carro, R. E. D’almeida, M. I. Isla, and M. R. Alberto, “Actividad antiinflamatoria de catorce especies vegetales de las regiones áridas del noroeste argentino,” 2013.
- [55] R. T. Carro, M. I. Isla, J. L. Ríos, R. M. Giner, and M. R. Alberto, “Anti-inflammatory properties of hydroalcoholic extracts of argentine puna plants,” *Food Research International*, vol. 67, pp. 230–237, 2015.
- [56] S. Gajardo, M. Aguilar, T. Stowhas, F. Salas, J. Lopez, C. Quispe, P. Buc-Calderon, and J. Benites, “Determination of sun protection factor and antioxidant properties of six chilean altiplano plants,” *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 15, no. 5, pp. 352–363, 2016.
- [57] M. D. P. Ruiz, R. M. Ordóñez, M. I. Isla, and J. E. Sayago, “Activity and mode of action of parastrephia lepidophylla ethanolic extracts on phytopathogenic fungus strains of lemon fruit from argentine northwest,” *Postharvest Biology and Technology*, vol. 114, pp. 62–68, 2016.
- [58] J. E. Sayago, R. M. Ordonez, L. N. Kovacevich, S. Torres, and M. I. Isla, “Antifungal activity of extracts of extremophile plants from the argentine puna to control citrus postharvest pathogens and green mold,” *Postharvest Biology and Technology*, vol. 67, pp. 19–24, 2012.
- [59] G. C. Rodrigo, G. R. Almanza, B. Akesson, R.-D. Duan, *et al.*, “Antiproliferative activity of extracts of some bolivian medicinal plants,” *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 4, no. 21, pp. 2204–2210, 2010.
- [60] I. C. Zampini, S. Cuello, M. R. Alberto, R. M. Ordóñez, R. D’almeida, E. Solorzano, and M. I. Isla, “Antimicrobial activity of selected plant species from “the argentine puna” against sensitive and multi-resistant bacteria,” *Journal of ethnopharmacology*, vol. 124, no. 3, pp. 499–505, 2009.
- [61] J. Benites, E. Gutierrez, J. López, M. Rojas, L. Rojo, M. do Céu Costa, M. P. Vinardell, and P. B. Calderon, “Evaluation of analgesic activities of tremetone derivatives isolated from the chilean altiplano medicine parastrephia lepidophylla,” *Natural Product Communications*, vol. 7, no. 5, p. 1934578X1200700517, 2012.
- [62] L. E. Rojo, J. Benites, J. Lopez, M. Rojas, P. Diaz, J. Ordonez, E. Pastene, *et al.*, “Antioxidant capacity and polyphenolic content of twelve traditionally used herbal medicinal infusions from the south american andes,” *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 8, no. 6, pp. 498–508, 2009.
- [63] C. Echiburu-Chau, L. Pastén, C. Parra, J. Bórquez, A. Mocan, and M. J. Simirgiotis, “High resolution uhplc-ms characterization and isolation of main compounds from

- the antioxidant medicinal plant *parastrephia lucida* (meyen),” *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 25, no. 7, pp. 1032–1039, 2017.
- [64] R. E. D’Almeida, M. I. Isla, E. d. L. Vildoza, C. Quispe, G. Schmeda-Hirschmann, and M. R. Alberto, “Inhibition of arachidonic acid metabolism by the andean crude drug *parastrephia lucida* (meyen) cabrera,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 150, no. 3, pp. 1080–1086, 2013.
- [65] R. E. D’Almeida, M. R. Alberto, C. Quispe, G. Schmeda-Hirschmann, and M. I. Isla, “Antimicrobial phenylpropanoids from the argentinean highland plant *parastrephia lucida* (meyen) cabrera,” *Journal of ethnopharmacology*, vol. 142, no. 2, pp. 407–414, 2012.
- [66] M. R. Alberto, I. C. Zampini, and M. I. Isla, “Inhibition of cyclooxygenase activity by standardized hydroalcoholic extracts of four asteraceae species from the argentine puna,” *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, vol. 42, pp. 787–790, 2009.
- [67] I. C. Zampini, J. Meson Gana, R. M. Ordoñez, J. E. Sayago, M. Nieva Moreno, M. I. Isla, *et al.*, “Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of plant species from the argentine puna (antofagasta, catamarca),” *Recent Progress in Medicinal Plants*, vol. 21, pp. 95–110, 2008.
- [68] R. Torres-Carro, M. I. Isla, S. Thomas-Valdes, F. Jimenez-Aspee, G. Schmeda-Hirschmann, and M. R. Alberto, “Inhibition of pro-inflammatory enzymes by medicinal plants from the argentinean highlands (puna),” *Journal of ethnopharmacology*, vol. 205, pp. 57–68, 2017.
- [69] L. Ayma, D. Herve, and M. Sauvain, “Efecto del extracto acuoso de la ch’illka (*parastrephia lucida*) en el control de la sarna en llamas,” *Waira Pampa. Un Sistema pastoril camélidos-ovinos del altiplano árido. ORSTOM. CONPAC-Oruro. IBTA, Bolivia*, pp. 185–194, 1995.
- [70] M. La Hoz and M. d. P. Matta, *Screening fitoquímico, antimicrobiano y antioxidante de plantas pre-andinas y del altiplano chileno*. PhD thesis, Universidad de Chile, 2009.
- [71] A. Alarcón, G. Burgos, and L. Flores Galleguillo, “Estudio de los potenciales efectos antifúngicos de los componentes volátiles de *parastrephia lucida*,”
- [72] J. Trevizan, E. Soto, F. Parra, L. Bustos, and C. Parra, “Antioxidant activity of nine medicinal plants with commercial potential,” *Idesia (Arica)*, vol. 38, no. 3, pp. 53–58, 2020.
- [73] V. De Feo, E. Urrunaga Soria, R. Urrunaga Soria, and F. Senatore, “Chemical composition of essential oils of *senecio nutans* sch.-bip.(asteraceae),” *Flavour and fragrance journal*, vol. 18, no. 3, pp. 234–236, 2003.
- [74] F. Surco-Laos, J. A. Garcia, M. R. Bendezú, D. Laos-Anchante, J. F. Panay-Centeno, M. Valle-Campos, J. J. Palomino-Jhong, P. E. Yarasca-Carlos, B. Loja, and A. T. Alvarado, “In vitro antioxidant properties and antimicrobial activity of the ethanolic extract of *senecio nutans* sch. beep.(asteraceae),” *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, vol. 10, no. 6, pp. 1026–1036, 2022.
- [75] L. Claudia and P. Cristina, “Antimicrobial activity in different parts of three *senecio* species [chachacoma],” 2005.
- [76] A. F. Y. Samantha, A. A. S. Maruzzela, A. M. D. Alejandra, and C. Choquehuanca,

“Inhibición de staphylococcus aureus mediante la actividad antibacteriana de plantas medicinales bolivianas,”

- [77] N. Huamani, “Actividad antimicrobiana frente microorganismos gram positivos y negativos del extracto etanólico de senecio nutans “chachacoma”,” 2022.
- [78] L. D. Mamani Lima, “Actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de senecio spp (chachacoma) en el crecimiento de escherichia coli, klebsiella sp, staphylococcus aureus y enterococcus sp,” 2017.
- [79] C. A. Huamani Ancasi, “Estudio fitoquímico de polifenoles totales y determinación de la actividad antioxidante por tres diferentes métodos del extracto etanólico de las partes aéreas de senecio nutans “chachacoma”,” 2021.
- [80] C. Echiburú-Chau, S. Alfaro-Lira, N. Brown, C. O. Salas, M. Cuellar, J. Santander, J. P. Ogalde, and F. Rothhammer, “The selective cytotoxicity elicited by phytochemical extract from senecio graveolens (asteraceae) on breast cancer cells is enhanced by hypoxia,” *International Journal of Oncology*, vol. 44, no. 4, pp. 1357–1364, 2014.
- [81] J. Palacios, A. Paredes, F. Cifuentes, M. A. Catalán, A. L. García-Villalón, J. Borquez, M. J. Simirgiotis, M. Jones, A. Foster, and D. J. Greensmith, “A hydroalcoholic extract of senecio nutans sch. bip (asteraceae); its effects on cardiac function and chemical characterization,” *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 300, p. 115747, 2023.
- [82] J. Santander, C. Otto, D. Lowry, M. Cuellar, M. Mellado, C. Salas, F. Rothhammer, and C. Echiburu-Chau, “Specific gram-positive antibacterial activity of 4-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl) acetophenone isolated from senecio graveolens,” 2014.
- [83] J. R. Soberón, E. F. Lizarraga, M. A. Sgariglia, M. B. C. Juárez, D. A. Sampietro, A. B. Altabef, C. A. Catalán, and M. A. Vattuone, “Antifungal activity of 4-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl) acetophenone against candida albicans: evidence for the antifungal mode of action,” *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 108, pp. 1047–1057, 2015.
- [84] N. Lopez, A. Booker, M. Simirgiotis, G. León, S. Alfaro-Lira, C. Salas, J. Santander, M. Heinrich, and C. Echiburú-Chau, “Metabolomic variation in senecio graveolens (asteraceae) in altitudinal populations,” *Planta Medica*, vol. 81, no. 16, p. PM_72, 2015.
- [85] C. Pérez, A. M. Agnese, and J. L. Cabrera, “The essential oil of senecio graveolens (compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests,” *Journal of ethnopharmacology*, vol. 66, no. 1, pp. 91–96, 1999.
- [86] A. J. Belaunde, J. G. Sandoval, L. D. Martino, F. Senatore, and V. D. Feo, “Chemical composition and antibacterial activity of senecio nutans essential oil,” *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 10, no. 4, pp. 332–338, 2007.
- [87] C. E. Galvez, C. M. Jimenez, A. d. I. A. Gomez, E. F. Lizarraga, and D. A. Sampietro, “Chemical composition and antifungal activity of essential oils from senecio nutans, senecio viridis, tagetes terniflora and aloysia gratissima against toxigenic aspergillus and fusarium species,” *Natural product research*, vol. 34, no. 10, pp. 1442–1445, 2020.
- [88] M. Mojica, M. N. Reynoso, S. Mengoni, R. A. Alzogaray, and C. F. Pinto, “Repellent activity of amomyrtus meli, peumus boldus and senecio nutans essential oils, on triatoma infestans (hemiptera: Reduviidae),” *Revista Ciencia, Tecnología e Innovación*, vol. 20, no. 26, pp. 89–100, 2022.
- [89] K. O. Pumaylle, L. R. P. Quiroz, D. L. B. Luján, and R. J. S. Paz, “Extracción,

- caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de senecio graveolens wedd (wiskataya),” *Scientia Agropecuaria*, vol. 3, no. 4, pp. 291–302, 2012.
- [90] E. Lizarraga, F. Castro, F. Fernández, M. P. de Lampasona, and C. A. Catalán, “Antioxidant, hemolytic and cytotoxic activities of senecio species used in traditional medicine of northwestern argentina,” *Natural Product Communications*, vol. 7, no. 5, p. 1934578X1200700515, 2012.
- [91] J. Dambolena, M. Zunino, E. Banchio, E. Lucini, F. Biurrun, A. Rotman, O. Ahumada, and J. Zygadlo, “Essential oil composition of three species of senecio from argentina,” *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 11, no. 6, pp. 623–627, 2008.
- [92] B. Flores and M. Noemi, “Evaluación de la capacidad antimicrobiana, antioxidante y propiedades físicas, del aceite esencial de chachacoma (senecio nutans sch.) en queso fresco tipo paria,” 2018.
- [93] I. N. de Estadísticas, “División político administrativa censal, región de arica y parinacota,” *Departamento de Geografía*, 2019.
- [94] R. J. M. Otarola, “Guía de antecedentes territoriales y culturales de los pueblos indígenas de chile,” *ResearchGate*, 2018.
- [95] A. Gatica-Castro, A. Marticorena, G. Rojas, G. Arancio, and F. A. Squeo, “Estado de conservación de la flora nativa de las regiones de arica-parinacota y de tarapacá, chile,” *Gayana. Botánica*, vol. 72, no. 2, pp. 305–339, 2015.
- [96] . B. D. Orellana, L., “Caracterización de humedales altoandinos para una gestión sustentable de las actividades productivas del sector norte del país,” *Centro de Información de Recursos Naturales (Chile)*, 2013.
- [97] M. H. Lima, *Captura de Carbono en dos especies de Tola (Parastrephia lepidophylla Wedd) Y (Baccharis incarum Wedd) en el sector llusta distrito de Mazocruz - Puno*. PhD thesis, Universidad Nacional del Altiplano, 2018.
- [98] A. I. de Ganaderos en Camélidos de los Andes Altos (AIGACAA), “Estudio de la tola y su capacidad de soporte para ovinos y camélidos en el ámbito boliviano d el sistema t.d.p.s.,” 2002.
- [99] U. K. Schuch, “Poda de arbustos en los desiertos de baja y media elevación de arizona,” 2022.
- [100] V. Software, “Calor específico del agua entre 0 °c y 100 °c.” http://www.vaxasoftware.com/doc_edu/qui/caloresph2o.pdf.
- [101] C. Dupont, R. Chiriach, G. Gauthier, and F. Toche, “Heat capacity measurements of various biomass types and pyrolysis residues,” *Fuel*, vol. 115, pp. 644–651, 2014.
- [102] C. Daniela, *Propuesta de clasificación de aceites esenciales a partir de sus propiedades térmicas*. PhD thesis, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, 2018.
- [103] E. Okonkwo, J. Odigure, J. Ugwu, K. Mu’azu, I. Williams, B. Nwobi, F. Okorie, and V. Oriah, “Design of pilot plant for the production of essential oil from eucalyptus leaves,” 2006.
- [104] Alambiqueinox, “Alambiques de 200 [l].” <https://alambiqueinox.es/alambiques-200-litros/>.
- [105] Maqfood, “Destilador alambique profesional.” <https://www.maqfood.cl/destilador-ala>

mbique-profesional-70l-aceites-esenciales-alcohol.

- [106] C. Franklin, “Anafe 1 plato doble quemador.” <https://comercialfranklin.cl/producto/anafe-1-plato-doble-quemador-tipo-wok-43x43-cms-maigas/>.
- [107] Kalstein, “Destilador de agua.” <https://www.kalstein.cl/destilador-de-agua/>.
- [108] M. S. Peters and K. D. Timmerhaus, “Plant design and economics for chemical engineers,” (*No Title*), 1968.
- [109] M. de Desarrollo Social, “Metodología general de preparación y evaluación de proyectos,” 2013.
- [110] M. de Hacienda., “Ley sobre impuestos a la venta y los servicios.” https://www.sii.cl/normativa_legislacion/sobreventasyservicios.pdf.
- [111] S. de Impuestos Internos, “Impuesto a la renta de primera categoría.” [//www.sii.cl/ayudas/aprenda_sobre/3072-1-3080.html](http://www.sii.cl/ayudas/aprenda_sobre/3072-1-3080.html).
- [112] W.-S. Ryu, “Diagnosis and methods,” *Molecular virology of human pathogenic viruses*, p. 47, 2017.
- [113] A. Astani, J. Reichling, P. Schnitzler, *et al.*, “Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils,” *Evidence-based complementary and alternative medicine*, vol. 2011, 2011.
- [114] E. J. Lenardão, L. Savegnago, R. G. Jacob, F. N. Victoria, and D. M. Martinez, “Antinociceptive effect of essential oils and their constituents: an update review,” *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 27, pp. 435–474, 2016.
- [115] K. Blowman, M. Magalhães, M. Lemos, C. Cabral, I. Pires, *et al.*, “Anticancer properties of essential oils and other natural products,” *Evidence-based complementary and alternative medicine*, vol. 2018, 2018.
- [116] I. N. del Cáncer, “¿qué es el cáncer?.” <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaliza/que-es>, 2021.

Anexos

Anexo A. Aceites Esenciales

A.1. Técnicas de análisis de AEs

La cromatografía es una técnica que se utiliza para separar componentes en mezclas complejas, y sirve como método de purificación para aislar componentes, para identificarlos y también para conocer la concentración de estos en la mezcla. Se utilizan columnas de cromatografía que contienen dos fases, una móvil y una estacionaria. La separación de los componentes se basa en la afinidad que tienen por una u otra fase, así los compuestos más afines a la fase móvil se extraen primero y los más afines a la fase estacionaria últimos.

En el análisis de los AEs se utiliza cromatografía de gases y cromatografía líquida, en las cuales la fase móvil es gaseosa y líquida, respectivamente. Generalmente, se utiliza la primera para estudiar la fracción volátil del AE, muchas veces combinada con espectrometría de masas, y la segunda para la no volátil.

Las técnicas de espectrometría miden la absorción de luz de las moléculas, y una vez ya separados los componentes se pueden utilizar para identificarlos. Ejemplos de éstas son la espectrometría infrarroja o de resonancia magnética nuclear, además de la ya mencionada espectrometría de masas.

A.2. Propiedades Biológicas de los AEs

Actividad Antiviral [22, 25, 28, 31, 38, 112, 113]

Los virus son agentes patógenos microscópicos que cuentan con material genético y se encuentran cubiertos por una capa proteica llamada cápside. No cuentan con la capacidad de reproducir su material genético, y por lo tanto, no se consideran como organismos vivos. Para replicarse, deben infectar una célula y utilizar los mecanismos de reproducción de la misma. Estos pueden generar infecciones de distinta gravedad.

Actualmente, igual que con los antibióticos, la resistencia por parte de algunos virus a los medicamentos existentes ha ido en aumento, por lo que es de interés buscar nuevos compuestos que puedan ser utilizados en la fabricación de nuevos medicamentos antivirales. La actividad antiviral de los AEs ocurre a través de varios mecanismos distintos, debido a que distintos componentes generan distintos efectos. Así, ha sido probado que usualmente el AE completo tiene más efectividad como antiviral que compuestos aislados del mismo.

Algunas de las formas en que actúan son denaturando proteínas de la cápside del virus,

inhibiendo la replicación del material genético o impidiendo que infecten las células. De esta manera logra disminuir la carga viral y evita la difusión a células no infectadas. El ensayo que generalmente se utiliza para medir la actividad antiviral es la técnica de reducción de placas. Esta consiste en infectar un cultivo celular en una placa petri con un virus y agregar AE, probando distintas concentraciones del mismo. Cuando una partícula viral logra infectar una célula genera que luego se infecten las células cercanas, ocurriendo sucesivamente. Las partes de la placa donde hay infección generan una placa que puede ser observada a simple vista. En este ensayo se mide cuánto disminuye la aparición de placas al aplicar el AE.

Actividad insecticida y repelente [23, 31]

A medida que la población mundial crece, también aumenta la necesidad de generar más alimentos. Dentro de la industria agronómica, es un tema importante el control de plagas, las que pueden hacer perder cultivos completos. En el último tiempo y con la cantidad de información accesible, se ha generado preocupación por el uso de químicos como pesticidas, debido a posibles efectos nocivos hacia la salud o el medioambiente. Esto, sumado a la resistencia que exhiben algunas plagas a los pesticidas actuales, hace que nazca el interés de buscar nuevos compuestos con actividad pesticida en fuentes naturales.

Los AEs poseen la capacidad de repeler y en algunos casos matar a varias especies de insectos, y también evitar que animales coman de una cierta planta. Se tiene que esta función es intrínseca a la planta de donde se obtiene un AE, siendo uno de sus métodos de protección contra otros organismos. Así, puede servir al ser utilizado en especies de cultivo. No hay disponible mucha información sobre los mecanismos de acción de esta actividad, principalmente debido a que involucraría estudiar excesivamente el metabolismo de la especie contra la que se utilice. Las pruebas de la actividad repelente e insecticida consisten en observar el comportamiento de algún tipo de insecto con respecto a la planta a la que se le aplicó un AE, midiendo la distancia a la planta y la cantidad de tiempo que el insecto se mantiene alejado de la misma.

Actividad antiinflamatoria [23, 28, 31, 47, 39]

La actividad antiinflamatoria inhibe la inflamación. Esta es una respuesta del sistema inmunitario ante una infección o daño de un tejido. Promueve la movilización de células inmunitarias al sitio que desencadenó la respuesta, con el fin de proteger de partículas o microorganismos extraños, reparar daños en tejidos y restaurar la homeostasis en la zona. A veces, la respuesta inflamatoria puede ser desmedida y causar daño en otros sistemas del organismo. Además, algunas enfermedades o lesiones causan inflamación crónica de una zona. Para tratar estos casos se pueden consumir medicamentos antiinflamatorios.

Los AEs pueden ser una fuente de compuestos que sirvan para generar nuevos fármacos con esta función. Actúan como antiinflamatorios al intervenir en las vías de señalización de la respuesta inmune, al inducir la supresión de citoquinas o al impedir la expresión de algunos factores de transmisión. Los estudios de esta actividad son principalmente ensayos *in vivo*, utilizando animales a los que se les genera inflamación y luego se mide el efecto de sustancia antiinflamatoria. Existen algunos estudios *in vitro*, siendo los más comunes los que evalúan la capacidad de una sustancia para inhibir las enzimas que sintetizan ácido araquidónico, el cual es un sustrato para enzimas que producen agentes inflamatorios.

Actividad antinociceptiva [22, 28, 31, 39, 114]

La actividad antinociceptiva es la que inhibe el dolor. Aunque también puede utilizarse el término de actividad analgésica, este último por definición se refiere a el alivio de la sensación de dolor, mientras que el primero se relaciona con la alteración de la respuesta a un estímulo de dolor, siendo más correcto utilizarlo. La nocicepción es el proceso en el cual se percibe un estímulo doloroso y potencialmente nocivo y se transmite esta señal a través del sistema nervioso para generar una respuesta. En este proceso se ven involucradas muchas reacciones bioquímicas e interacciones celulares, las que necesitan mediadores químicos específicos para ocurrir. El efecto antinociceptivo ocurre cuando se inhiben estas reacciones.

La evaluación de esta propiedad es realizada con pruebas en animales, en donde se aplica un estímulo doloroso al individuo, y luego se observa su reacción al dolor, por ejemplo, midiendo reflejos de dolor térmico, la cantidad de torsiones o viendo el comportamiento vinculado al dolor, como no utilizar una pata o lamerla. Dada la naturaleza de las pruebas, en general es más simple conocer si una sustancia causa efecto analgésico que el mecanismo de acción que tiene. Sin embargo, realizando los estudios en conjunto de otros medicamentos con mecanismos de acción conocidos, se puede conocer información relevante sobre la forma de actuar de la sustancia de interés.

De esta manera, se ha comprobado que los AEs pueden tener actividad antinociceptiva tanto en el sistema nervioso central como en el periférico. Se atribuye a estos el bloqueo de receptores de neurotransmisores, impidiendo el funcionamiento de los canales transmembrana, o alterando la concentración de algún neurotransmisor. Un componente conocido de algunos AEs es el mentol. Este es reconocido como un analgésico tópico. Actúa a través de la inhibición de los iones de calcio, los cuales son neurotransmisores, bloqueando los canales transmembrana de las neuronas y finalmente impidiendo la transmisión de la señal de dolor.

Actividad anticancerígena [22, 23, 31, 28, 115, 116]

El cáncer es una enfermedad caracterizada por el crecimiento descontrolado de algunas células. En el proceso de mitosis existen sistemas de control que aseguran que las células dañadas o defectuosas no se multipliquen y en cambio mueran pero a veces estos fallan, por lo que se lleva a cabo la división celular y esto sigue ocurriendo hasta generar tumores.

Los AEs o componentes de éstos han demostrado efectividad en el tratamiento de estos tumores. Lo hacen generando la apoptosis de las células cancerígenas, inhibiendo el crecimiento del tumor o incluso disminuyéndolo. Además, poseen efectos antimutagénicos en las células, lo que implica que pueden prevenir la aparición de tumores. Los estudios que se realizan para medir la actividad anticancerígena incluyen medir la reducción de tamaño y la tasa de muerte celular de cultivos de células tumorales, generalmente incluyendo distintos tipos de cáncer. También se realizan pruebas *in vivo*, usualmente en ratones, introduciendo la sustancia en estudio en su dieta o inyectándolo en el tumor de individuos con cáncer.

Actividad antifúngica [22, 25, 36, 38, 40, 41]

Las infecciones causadas por hongos pueden causar daños serios a la salud y muchas veces son difíciles de eliminar. Además, pueden infectar cultivos o alimentos. Debido a los riesgos que implican, es que se buscan compuestos naturales que no sean nocivos para el ser humano que tengan actividad antifúngica. En el último tiempo se han hecho estudios que evalúan esta propiedad en los AEs. Se ha descubierto que estos pueden atacar a especies del reino fungi e inhibir su crecimiento en distintas etapas reproductivas.

Los hongos se reproducen principalmente a través de esporas, las cuales liberan al aire en estado latente. En este estado son resistentes a la temperatura, luz y varios compuestos químicos por lo que es extremadamente difícil destruirlas. Sólo salen de este estado cuando encuentran un ambiente apto para su desarrollo, momento en el que germinan y empieza el crecimiento del hongo. Además de ser el primer paso en la reproducción, las esporas están llenas de micotoxinas, las que son dañinas para el ser humano y se liberan en la germinación.

Los AEs han demostrado la capacidad de matar las esporas cuando son liberados en forma de vapor, por lo que además de inhibir el crecimiento del hongo, pueden impedir completamente la infección, lo que tiene un gran valor para la industria alimentaria. Para comprobar la actividad antifúngica de los AEs, se utilizan pruebas *in vitro*, generalmente disolviendo el AE en agar para luego hacer placas petri o en un caldo de cultivo, y luego evaluar el crecimiento, o la inhibición de este, en una o más especies de hongos.

Otras propiedades [22, 23]

En conjunto con las actividades descritas, también se ha comprobado que los AEs pueden tener efectos beneficiosos en el sistema digestivo y respiratorio. Además, también se ha estudiado la citotoxicidad de los AEs, demostrando que tienen capacidad de producir la muerte celular por lisis o induciendo la apoptosis.

A.3. Metodologías de extracción [23, 20, 21, 25, 28, 29, 32, 36, 35]

La etapa más importante y definitoria del proceso completo es la extracción del AE. Como fue mencionado, el AE es acumulado en células secretoras o glándulas como los tricomas, que pueden encontrarse en distintas partes de una planta según la especie. Dado que estas estructuras tienen una morfología variada, la liberación del AE al medio puede ocurrir debido a la ruptura de las paredes celulares o a través de poros en las estructuras que permiten el paso del aceite. El tipo de liberación depende de el tipo de glándula secretora, pudiendo haber varios tipos en una misma planta. Así, las metodologías de extracción utilizan presión o calor para generar daño en los tejidos y producir la ruptura de las células o también agua y/o solventes que generen un gradiente de concentración permitiendo que el AE difunda a través de las paredes celulares.

La extracción de AE puede llevarse a cabo de distintas maneras. La elección de esta metodología depende generalmente de la escala de producción y la finalidad de la misma. Esta debe elegirse cuidadosamente dado que distintas metodologías de extracción pueden afectar

la composición y los componentes del AE. A continuación, se describen las distintas técnicas que se pueden utilizar para la extracción de AE a partir de materia vegetal.

A.3.1. Macerado

Una de las formas más antiguas y básicas de extracción de aceite esencial es el macerado. En este método, se sumerge la materia prima en aceite vegetal y se machaca o tritura manualmente mientras se aplica calor a la mezcla. Esta técnica difiere del resto de las metodologías, debido a que el producto no es una extracción de AE, sino más bien aceite vegetal infundido con aceite esencial, y por lo tanto no siempre es considerada como una técnica de extracción. Este producto puede ser utilizado para masajes o aromaterapia. La desventaja de esta técnica es que no se obtiene el AE puro y el producto tendrá una baja concentración del mismo. Sin embargo dentro de los beneficios de utilizarla es la baja o nula dificultad técnica de la misma.

A.3.2. *Enfleurage* o enflorado

Similar al macerado, es la técnica de *enfleurage* o enflorado, utilizada principalmente cuando el AE se encuentra en las flores de la especie (de ahí su nombre). Se mezcla la materia prima con aceite o grasa vegetal, que actúa como solvente y retiene el AE. La materia vegetal se va cambiando hasta que la grasa se satura. Es un método que consume tiempo y mano de obra, y por lo tanto resulta costoso. Hoy en día está en desuso a nivel industrial.

A.3.3. Prensado en frío

Otra de las metodologías utilizadas desde la antigüedad es el prensado en frío, que es una técnica mecánica donde se aplica presión al MV. También puede mezclarse con bajas cantidades de agua. Como producto se obtiene el AE junto con agua propia de la planta y el agua agregada, de existir, además de restos vegetales. En consecuencia, para obtener el AE puro deben realizarse etapas de filtración y separación adecuadas. Este método, en su forma más básica, no necesita de mucha tecnología pero se utiliza también de manera industrial con prensas hidráulicas. Es casi exclusivamente utilizado cuando la materia prima viene de una especie cítrica, dado que el AE se encuentra en las cáscaras de los frutos y es difícil de extraer con otros métodos, obteniendo con estos menor rendimiento.

A.3.4. Destilación

La metodología más utilizada es la destilación. Esta puede realizarse en sistemas con agua, agua y vapor o solo vapor. La extracción por destilación es utilizada desde tiempos ancestrales y es actualmente la forma más común en procesos industriales de mediana y gran escala. En esta operación, se utiliza agua y una fuente de calor para llevarla a temperatura de ebullición. El calor y el gradiente de concentración que se genera permiten la difusión del aceite y su liberación al medio. Luego, este se solubiliza en agua en forma de vapor y finalmente existe una etapa de condensación para recuperar el aceite. La diferencia entre los sistemas agua, agua y vapor, o solo vapor, varía en si el MV es sumergido en el agua, está en el mismo recipiente que el agua pero separado de la misma, o si el agua ingresa al equipo directamente en estado gaseoso, respectivamente. En la sección 2.4.2 se habla sobre

este proceso de extracción en forma detallada.

A.3.5. Extracción por solventes

La extracción por solventes actúa a través de la elección de un solvente volátil orgánico, para realizar una extracción líquido-líquido, donde el aceite se solubiliza en el solvente orgánico debido a su afinidad con el mismo. Además, el solvente permite el rompimiento celular, liberando el aceite al medio acuoso de la planta y luego puede migrar hacia la fase orgánica. Para llevar a cabo este procedimiento se pone el MV en contacto con el solvente durante un tiempo determinado. Comúnmente se utilizan solventes como etanol, hexano, metanol o cloroformo.

Su principal ventaja es que puede realizarse a bajas temperaturas, y así la estructura química de los componentes del AE no se ve afectada por el calor. Es utilizado en la industria de perfumería en escala de laboratorio, debido a los altos costos de los solventes y la contaminación que implican estos. Dentro de las desventajas de este proceso se destaca que el solvente también solubiliza otros componentes que luego quedan como impurezas en el producto extraído, por lo que debe ser sometido a operaciones de separación y purificación posteriores. También debe eliminarse el solvente, lo que suele hacerse a través de destilación. Eliminar las impurezas y el solvente totalmente es de suma importancia si el producto final será comercializado para uso humano, debido a las posibles alergias o intoxicaciones que puede causar.

Cabe destacar que en la metodología recién descrita, según la definición de la ISO, al utilizar solventes orgánicos en la extracción el producto no se puede considerar efectivamente un aceite esencial, pero esto varía según la definición que se utilice. Lo mismo ocurre con la extracción a través de fluidos supercríticos. Dado que el producto final no se podría comercializar como AE, estas metodologías se utilizan principalmente cuando se necesita el producto por su aroma, debido a que con estas técnicas el aroma del AE es muy similar al de la planta misma. Por esto, se utilizan en las industrias de comida y perfumería, como saborizantes o aromatizantes.

A.3.6. Extracción con fluidos supercríticos

La extracción a través de fluidos supercríticos es una de las técnicas más recientes y está integrada en varias metodologías modernas de extracción de AE. Se utilizan fluidos supercríticos, los cuales son fluidos que se encuentran a condiciones de presión y temperatura mayores a su punto crítico, lo que permite que el fluido difunda como un gas pero pueda disolver como un líquido. Para llevar a cabo la extracción se debe poner el MV en una cámara cerrada por la que se hace circular el fluido supercrítico (usualmente se utiliza dióxido de carbono), y que al pasar a través del MV solubiliza el aceite. Luego se elimina el fluido ajustando progresivamente la presión y temperatura para que se libere en forma gaseosa, dejando simplemente el AE.

La presión, temperatura y flujo de fluido supercrítico son factores que pueden ser ajustados para obtener mejores rendimientos o solubilizar distintos componentes, y esto lo convierte en un proceso con alta selectividad. Los fluidos supercríticos tienen alta difusividad y baja

viscosidad, lo que permite que penetren el material poroso sólido de mejor manera que un solvente líquido, lo que aumenta la velocidad de la transferencia de masa y por ende disminuye el tiempo total de extracción. Esta metodología tiene muchas ventajas, dado que se puede llevar a cabo a bajas temperaturas para no alterar la composición química del producto, es amigable con el medio ambiente, es fácilmente escalable, obtiene altos rendimientos y no requiere etapas de purificación posteriores. Puede ser utilizada en pequeña y gran escala y en formato por tandas o continuo. Sin embargo, los equipos que se utilizan son costosos y necesitan de instalaciones adecuadas para su uso.

A.3.7. Otras metodologías

Dado el nuevo interés y el crecimiento del mercado de AE, en las últimas décadas se han desarrollado varias metodologías de extracción nuevas. Estas tienen el foco en la sustentabilidad del proceso, evitar la degradación del producto debido a la temperatura y realizar una extracción más eficiente que las metodologías más antiguas. Algunos ejemplos son la extracción asistida por microondas o por ultrasonido y la extracción por caída de presión controlada, entre otras. Estos métodos se basan en distintos principios, teniendo como función poder solubilizar el AE presente en las células.

Anexo B. Resultados Experimentales

B.1. Resultados Antibiograma

En las Figuras B.1 y B.2 se muestran los resultados de actividad antibiótica que no fueron incluidos en el análisis previo.

Se puede observar que en dos de los triplicados para *P. lucida* no se muestra actividad antibacteriana, sin generar un halo de inhibición que se pueda considerar.

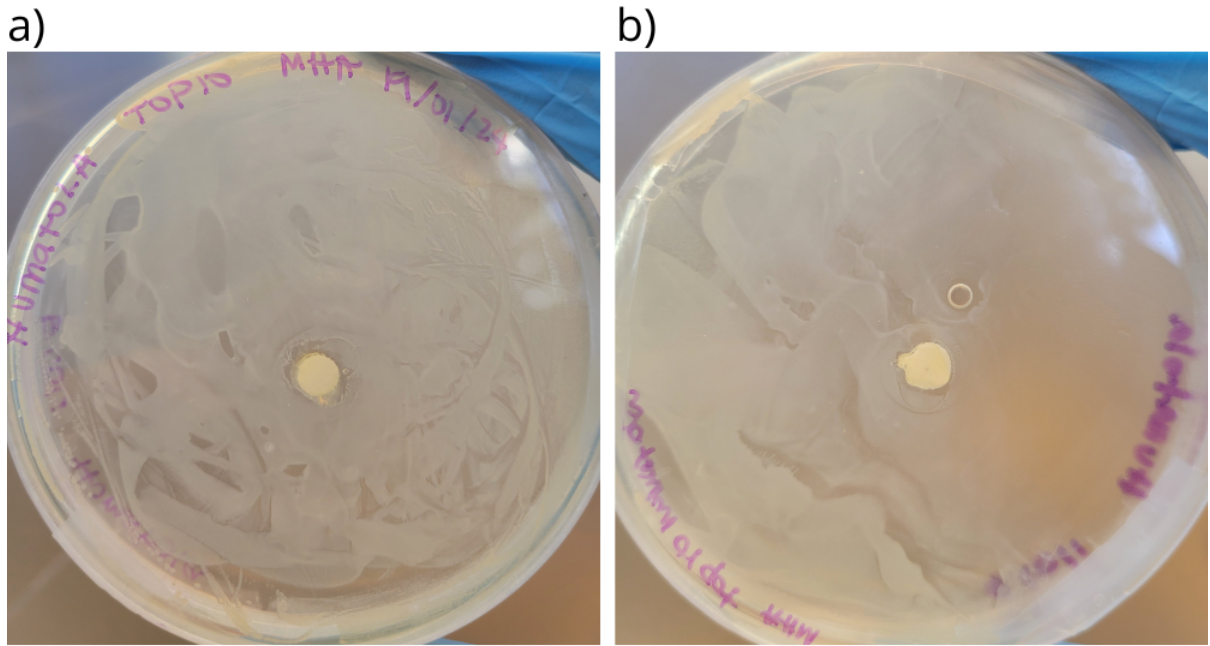


Figura B.1: Antibiograma de *P. lucida*

En el caso del tercer triplicado de ampicilina, el disco se desplazó a través de la placa, y aunque se observa actividad antibacteriana, no se puede medir un radio exacto.

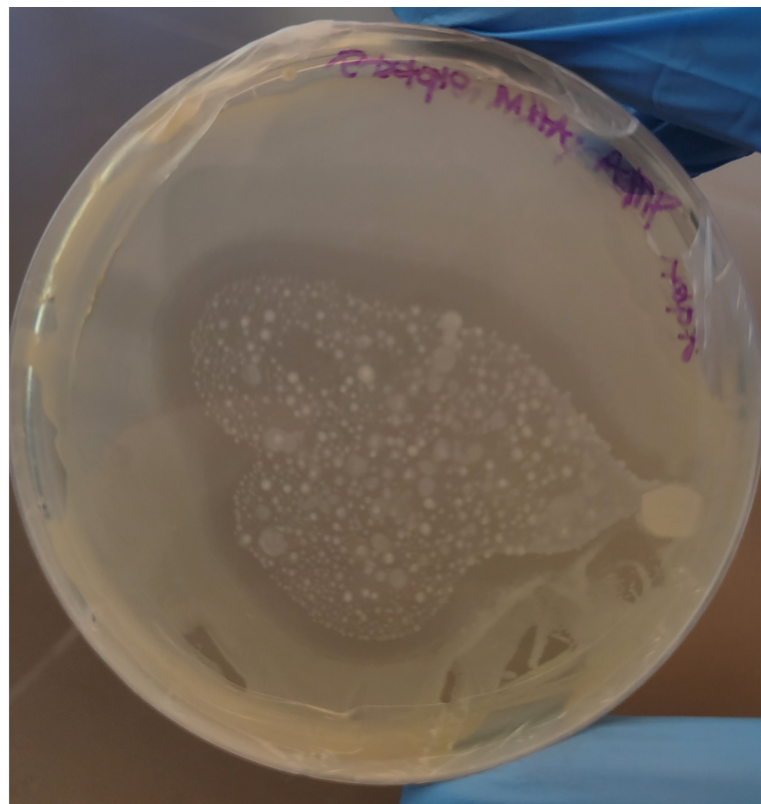


Figura B.2: Control positivo de ampicilina

Anexo C. Cálculos Diseño del Proceso

En este anexo se muestran los anexos referentes a cálculos realizados en el diseño del proceso. Específicamente, se tienen los resultados de los balances de masa y del análisis financiero que no fueron incluidos en el desarrollo de este trabajo.

C.1. Cálculos Balance de Masa

A continuación se encuentran los resultados de los balances de masa para las especies *P. lucida* (Humatola) y *S. nutans* (Chachacoma). Se incluye el detalle de las etapas de extracción y separación, el resumen del balance por lote y el balance de masa anual.

Extracción

Los resultados de los balances de masa para la operación unitaria de extracción de las especies *P. lucida* y *S. nutans*, se encuentran en las tablas C.1 y C.2, respectivamente.

Tabla C.1: Balance de masa de la operación unitaria de extracción para *P. lucida*

Balance de Masa Extracción					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F3	25,00	MV Seco	1,00	25,00	99,78
F4	74,78	Agua	1,00	74,78	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F5	32,46	MV Seco	0,77	24,98	99,78
		Agua	0,23	7,48	
F6	67,32	Hidrolato	0,9997	67,30	
		AE	0,0003	0,02	

Tabla C.2: Balance de masa de la operación unitaria de extracción para *S. nutans*

Balance de Masa Extracción					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F3	25,00	MV Seco	1,00	25,00	99,78
F4	74,78	Agua	1,00	74,78	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F5	32,36	MV Seco	0,77	24,88	99,78
		Agua	0,23	7,48	
F6	67,41	Hidrolato	0,9983	67,30	
		AE	0,0017	0,12	

Separación

Los resultados de los balances de masa para la operación unitaria de separación de las especies *P. lucida* y *S. nutans*, se encuentran en las tablas C.3 y C.4, respectivamente.

Tabla C.3: Balance de masa de la operación unitaria de separación para *P. lucida*

Balance de Masa Separación					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F6	67,41	Hidrolato	0,9997	67,30	67,32
		AE	0,0003	0,02	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F7	67,30	Hidrolato	1,00	67,30	67,32
F8	0,12	AE	1,00	0,02	

Tabla C.4: Balance de masa de la operación unitaria de separación para *S. nutans*

Balance de Masa Separación					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F6	67,41	Hidrolato	0,9983	67,30	67,41
		AE	0,0017	0,12	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F7	67,30	Hidrolato	1,00	67,30	67,41
F8	0,12	AE	1,00	0,12	

Resumen balance de masa por lote

En las tablas C.5 y C.6 se muestra el resumen del balance de masa por flujo y por especie, por lote, para las especies *P. lucida* y *S. nutans*, respectivamente.

Tabla C.5: Resumen de balance de masa por flujo y especie para *P. lucida*, donde MVS: Material vegetal seco, HL: hidrolato, AE: aceite esencial y AP: agua de pozo,

Flujo	MVS	Agua	HL	AE	AP	Total [kg]
F1: MV recolectado	25,00	9,77	0	0	0	34,77
F2: Evaporación MV	0	9,77	0	0	0	9,77
F3: MV seco	25,00	0	0	0	0	25,00
F4: Agua destilación	0	74,78	0	0	0	74,78
F5: Desechos destilación	24,98	7,48	0	0	0	32,46
F6: Productos destilación	0	0	67,30	0,02	0	67,32
F7: Hidrolato	0	0	67,30	0	0	67,30
F8: Aceite Esencial	0	0	0	0,02	0	0,02
F9: Entrada Refrigerante	0	0	0	0	1318	1318
F10: Salida Refrigerante	0	0	0	0	1318	1318

Tabla C.6: Resumen de balance de masa por flujo y especie para *S. nutans*, donde MVS: Material vegetal seco, HL: hidrolato, AE: aceite esencial y AP: agua de pozo,

Flujo	MVS	Agua	HL	AE	AP	Total [kg]
F1: MV recolectado	25,00	9,77	0	0	0	34,77
F2: Evaporación MV	0	9,77	0	0	0	9,77
F3: MV seco	25,00	0	0	0	0	25,00
F4: Agua destilación	0	74,78	0	0	0	74,78
F5: Desechos destilación	24,88	7,48	0	0	0	32,36
F6: Productos destilación	0	0	67,30	0,12	0	67,41
F7: Hidrolato	0	0	67,30	0	0	67,30
F8: Aceite Esencial	0	0	0	0,12	0	0,12
F9: Entrada Refrigerante	0	0	0	0	1318	1318
F10: Salida Refrigerante	0	0	0	0	1318	1318

Balance de masa anual

El detalle del balance de masa anual de producción de AE para las especies *P. lucida* y *S. nutans* se muestra en las tablas C.7 y C.8, respectivamente.

Tabla C.7: Balance de masa anual para *P. lucida*

Balance de Masa Anual					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F1	2880,81	MV Seco	0,72	2071,16	9094,28
		Agua	0,28	809,65	
F4	6213,47	Agua	1,00	6213,47	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Salida Total [kg/batch]
F2	809,65	MV Seco	1,00	809,65	9094,28
F5	2690,97	MV Seco	0,77	2069,62	
		Agua	0,23	621,35	
F7	5592,13	Hidrolato	1,00	5592,13	
F8	1,54	AE	1,00	1,54	

Tabla C.8: Balance de masa anual para *S. nutans*

Balance de Masa Anual					
Flujo	Entrada [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F1	2880,81	MV Seco	0,72	2071,16	9094,28
		Agua	0,28	809,65	
F4	6213,47	Agua	1,00	6213,47	
Flujo	Salida [kg/batch]	Composición	Fracción Másica	Masa en corriente [kg]	Entrada Total [kg/batch]
F2	809,65	MV Seco	1,00	809,65	9094,28
F5	2682,89	MV Seco	0,77	2061,55	
		Agua	0,23	621,35	
F7	5592,13	Hidrolato	1,00	5592,13	
F8	9,61	AE	1,00	9,61	

C.2. Cálculos balance de energía

Dentro de las etapas definidas en el proceso, la única que utiliza energía es la de extracción. El destilador necesita una fuente de calor para llevar el agua a temperaturas cercanas a la ebullición, y lograr la evaporación de la misma para lograr la extracción del AE. Como fuente de calor se decide utilizar balones de gas, debido a las condiciones técnicas encontradas en Tacora. Además, en la condensación que ocurre en esta etapa, se necesita un flujo de refrigerante, para el cual se decidió utilizar agua de pozo debido a su disponibilidad y posibilidad de reutilizarse.

La principal importancia del balance de energía para este proyecto tiene que ver con el cálculo del combustible necesario para hacer funcionar el equipo y el flujo de refrigerante que se utiliza, dado que permiten hacer un correcto análisis económico y de sostenibilidad del proceso. Un balance de energía minucioso para esta operación incluye cálculos de transferencia de masa y calor pero existe poco estudio y estandarización de estos modelos en la extracción de AEs. Debido a esta insuficiencia de información disponible, se opta por realizar un balance de energía simple, que cumpla sólo con la función requerida para este trabajo.

La destilación de vapor agua es un proceso semicontinuo. Aunque se carga como un batch en cuanto a agua y MV, el vapor de agua se produce de forma constante y al irse condensando genera un flujo de salida en el equipo (este es continuo pero no constante). El flujo de vapor de salida es enfriado con refrigerante. Los balances de energía se realizan considerando las dos operaciones de manera independiente.

Para simplificar el cálculo del balance de energía de la extracción, se consideran y calculan los requerimientos energéticos de los distintos procesos que ocurren. Primero, se calcula el flujo de calor necesario para llevar el contenido del destilador (agua y MV) a la temperatura de ebullición del agua (a la que funcionará la destilación). Luego se calcula el calor necesario para evaporar el 90 % del agua y el contenido total de AE. Finalmente también se considera el calor necesario para mantener la temperatura (causado por pérdidas al ambiente). Con

la suma de estos se puede calcular el calor que necesita el sistema para luego obtener una estimación del combustible que gastará.

Un balance de energía a una operación o proceso está dado por la ecuación C.1, donde $E_{sistema}$ es la acumulación de energía en el sistema, \dot{Q} es el flujo de calor entregado o cedido por el sistema, \dot{W} es el trabajo ejercido por el sistema y las sumatorias corresponden a la energía de los flujos de entrada y salida.

$$\frac{dE_{sistema}}{dt} = \dot{Q} - \dot{W} + \sum_i^n (F_i \cdot E_i)_{entrada} - \sum_i^n (F_i \cdot E_i)_{salida} \quad (C.1)$$

Para realizar los balances de energía en este trabajo se considera un estado estacionario energético (sin acumulación de energía), además de que el sistema no ejerce trabajo. Técnicamente, dado que es un proceso semicontinuo, la materia vegetal estaría absorbiendo energía, pero se toma como si fuera un flujo de salida, bajo el supuesto de que luego de llegar a la temperatura requerida se mantiene a esta. La energía correspondiente a los flujos se puede calcular con los cambios de temperatura y estado de las especies. Así, el balance resultante se muestra en la ecuación C.2.

$$\dot{Q} = \dot{F}_e \cdot \sum_i^n (x_i \cdot c_{p_i} \cdot (T - T_0)) + \dot{F}_{vapor} \cdot \lambda_{agua} + \dot{F}_{AE} \cdot \lambda_{AE} \quad (C.2)$$

Donde \dot{F}_e es el flujo de entrada al batch y \dot{F}_{vapor} y \dot{F}_{AE} son los flujos de salida de vapor de agua y AE. λ_{agua} y λ_{AE} son los calores latentes de vaporización de estas sustancias. T es la temperatura de salida e interior del equipo (se asume que son iguales) y T_0 es la temperatura de entrada. Dentro de la sumatoria se tienen x_i y c_{p_i} , la fracción másica y el calor específico de la especie i (en el flujo de entrada al destilador se tienen dos especies, agua destilada y MV seco).

Se considera que tanto el MV seco como el agua destilada se encuentran a una temperatura ambiente de 20 [°C] al iniciar la operación, considerando la temperatura en Tacora durante los meses de operación y que el proceso ocurre en un espacio cerrado. Se necesita una temperatura de operación de 100 [°C]. La evaporación del AE ocurre a temperaturas cercanas a la de evaporación del agua debido a las presiones de vapor en el contenedor, como fue visto en el marco teórico.

Para poder calcular el calor necesario para los cambios de temperatura y estado, se utilizan los datos expuestos en la tabla C.9. El calor específico del agua fue tomado como un promedio del valor para las temperaturas iniciales y finales [100]. Para el calor específico del MV seco se utilizó el valor más alto obtenido en un estudio a distintas biomásas [101]. El calor latente del MV fue obtenido a partir del promedio de los calores latentes de AEs con composiciones similares a los de este estudio [102].

Tabla C.9: Valores utilizados para el balance de energía.

Parámetro	Valor	Unidad
Temperatura inicial	293,15	[°K]
Temperatura final	373,15	[°K]
Calor específico Agua	4,20	[kJ/kg°K]
Calor específico MV seco	2,00	[kJ/kg°K]
Calor latente Agua	2,26	[kJ/kg]
Calor latente AE	258,19	[kJ/kg]

Debido a que el proceso es semicontinuo, se calcula el valor total del calor necesario, no como un flujo con respecto al tiempo. Los resultados se exponen en la tabla C.10

Tabla C.10: Resultados balance de energía para los cambios de estado y temperatura de las especies.

Cambio	Flujo	Entrada [kg/batch]	Especie	Fracción Másica	Calor (Q) [kJ]
Temperatura	F3	25,00	MV Seco	1,00	4.000
	F4	74,78	Agua	1,00	25.118,42
Estado	F6	67,32	Hidrolato	0,9996	151.890,46
			AE	004	6,26

Luego, se debe calcular la cantidad de calor que se pierde desde el destilador hacia el ambiente. Para esto se utiliza la ecuación C.3, donde h es el coeficiente de transmisión de calor por convección, A es el área de transferencia (superficie), T la temperatura del equipo y su interior, y T_a la temperatura ambiente.

$$\dot{Q} = h \cdot A \cdot (T - T_a) \quad (C.3)$$

El coeficiente h se obtiene de un proceso similar al diseñado, con un valor de $0,275 \left[\frac{W}{m^2 \cdot ^\circ K} \right]$ [103]. Se considera el área del manto del cilindro con las dimensiones que se definen en la sección 5.6. La temperatura ambiente se toma como $20 \text{ [}^\circ\text{C]}$ y la de operación de $100 \text{ [}^\circ\text{C]}$.

Con esto, y considerando que se pierde este flujo de calor durante las 2 horas del proceso, el calor total perdido por convección es de $275,48 \text{ [kJ]}$.

Finalmente, se considera que la eficiencia de la transferencia de calor de la fuente de calor al destilador es de un 90% [103]. Así, el calor total que requiere el proceso ($Q_{proceso}$) y el que se debe entregar por parte de la fuente de calor (Q_{fuente}) se expresan en C.4.

$$Q_{proceso} = 181.290,62[kJ]$$

$$Q_{fuente} = \frac{Q_{proceso}}{0,9} = 201.434,02[kJ] \quad (C.4)$$

Una vez obtenido el resultado de este balance, se procede a calcular el de la etapa de condensación. Para esto debe considerar el calor necesario para el cambio de fase del agua y el aceite de vapor a líquido y también para enfriar este flujo. Se establece que el flujo de salida del condensador (F6) esté a una temperatura de 50 [°C] [103].

Luego, y con los valores ya expuestos, se tiene que el calor necesario para esta etapa (Q_c) es el expresado en la ecuación C.5.

$$Q_c = 166.030,92[kJ] \quad (C.5)$$

Con esto se procede a calcular el valor del flujo de refrigerante (que fue expuesto pero no calculado en la sección anterior). Para este cálculo se impone que la temperatura final del refrigerante sea igual a la de F6 (50 [°C]) y la de entrada de 20 [°C]. Como supuesto se tiene que el flujo de salida de F6 es constante durante toda la extracción. Así, se tiene que el flujo de refrigerante necesario es de 11 litros por minuto, equivalente a 1318 kilogramos por lote.

C.3. Cálculos OPEX

En este anexo se encuentra el detalle de los supuestos, datos y cálculos utilizados para obtener los gastos operacionales asociados al consumo energético.

Para el proceso se utilizará como fuente de energía balones de gas y estos deberán ser movilizadas por miembros de la comunidad (quienes poseen camionetas o camiones a su disposición).

En el balance de energía se obtuvo que el proceso necesita 201.434 [kJ] y que el anafe a utilizar debe tener al menos 15 [kW] de potencia. Se eligió un anafe con potencia de 15,5 [kW]. El consumo nominal de gas licuado de petróleo del anafe elegido es de 1,13 [kg/h]. Se utilizan 2 anafes durante 6 horas diarias para la extracción de AE y 1 anafe durante 7 horas diarias para la destilación de agua. Así, el consumo diario de gas está dado por la ecuación C.6.

$$Consumodegas = 1,13\left[\frac{kg}{h}\right] \cdot (6 \cdot 2 + 7)\left[\frac{h}{día}\right] Consumodegas = 21,47\left[\frac{kg}{día}\right] \quad (C.6)$$

Entonces, el consumo de gas será de 21,47 [kg/día]. En este cálculo se toma como supuesto que el calor se suministra de manera constante durante todo el proceso.

Como se considera la acción de la planta durante 106 días al año, el consumo anual de gas será de 2277 [kg]. Esto equivale a aproximadamente 51 balones de gas de 45 [kg] y se considera un factor de seguridad del 10 %, obteniendo un total de 56 balones de gas al año.

El precio de la recarga de balón es de \$69.990, dando un gasto total anual de \$3.919.440 CLP.

Luego, se calcula la bencina que se utilizará. Se deberá abastecer la planta con 7 balones cada dos semanas. Esto implica 8 viajes de ida y vuelta, con un vehículo cargado. El peso de un balón lleno es de 75 [kg], por lo que al trasladar 7 al mismo tiempo se tiene un peso de 525 [kg]. Los autos pequeños o medianos pueden cargar más de mil kilogramos, por lo que el peso de los balones no será un problema.

La distancia a recorrer es de 140 [km] y se asume un rendimiento del vehículo de 5 [km/L]. Esto es un rendimiento bajo con respecto al normal en los autos, pero considera el desnivel y estado del camino y el peso asociado a los balones, factores que disminuyen el rendimiento.

Con esto se tiene que se utilizan 28 [L] de bencina en cada viaje, lo que se multiplica por 2 (para considerar ida y vuelta) y por los 7 viajes a realizar. Esto da un total de 392 litros. El precio de cada litro de bencina es de \$1335, resultando en un gasto total en bencina de \$523.320.

Finalmente, el gasto total asociado a insumos (específicamente gastos energéticos) son equivalentes a \$4.442.760 CLP.